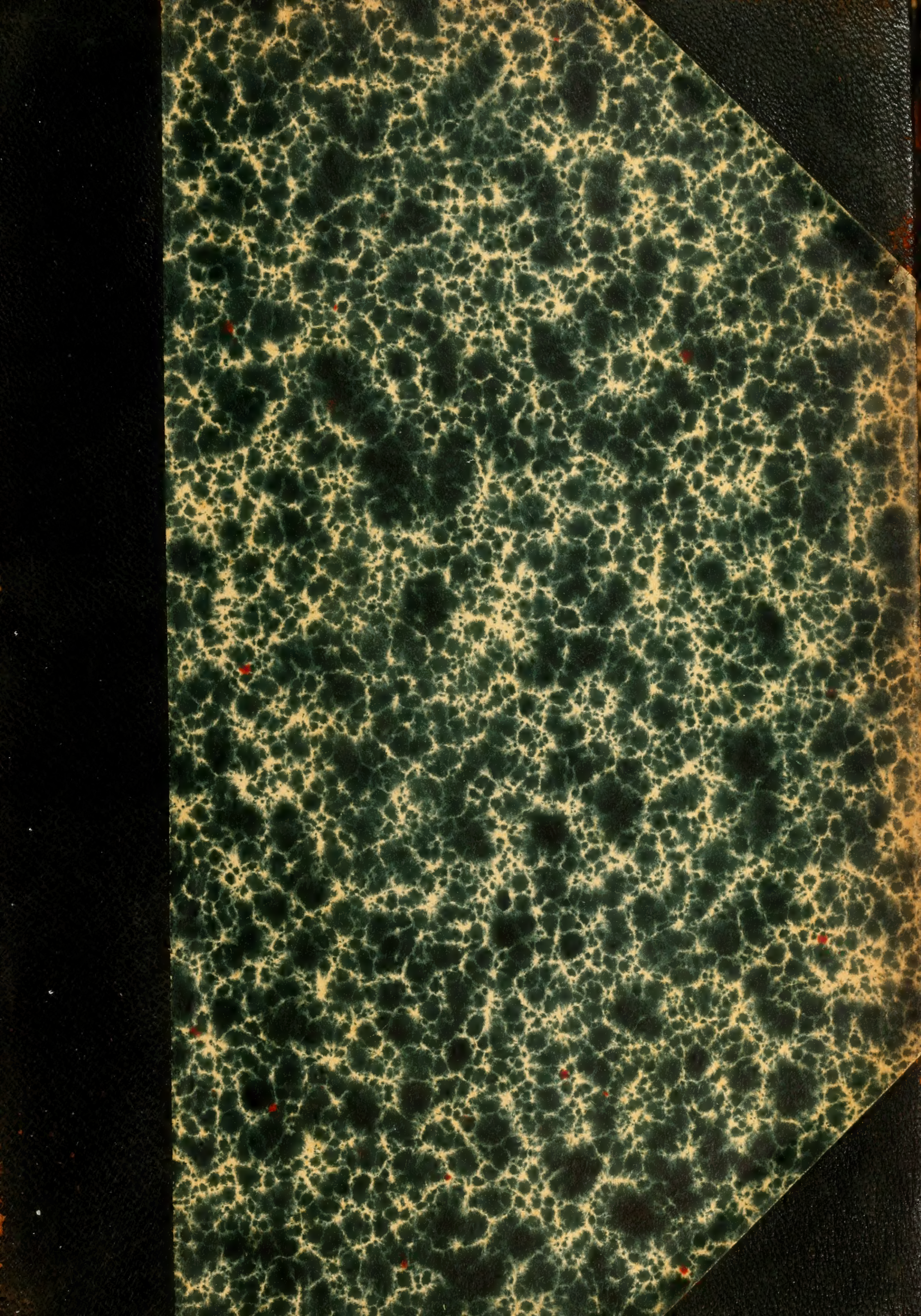
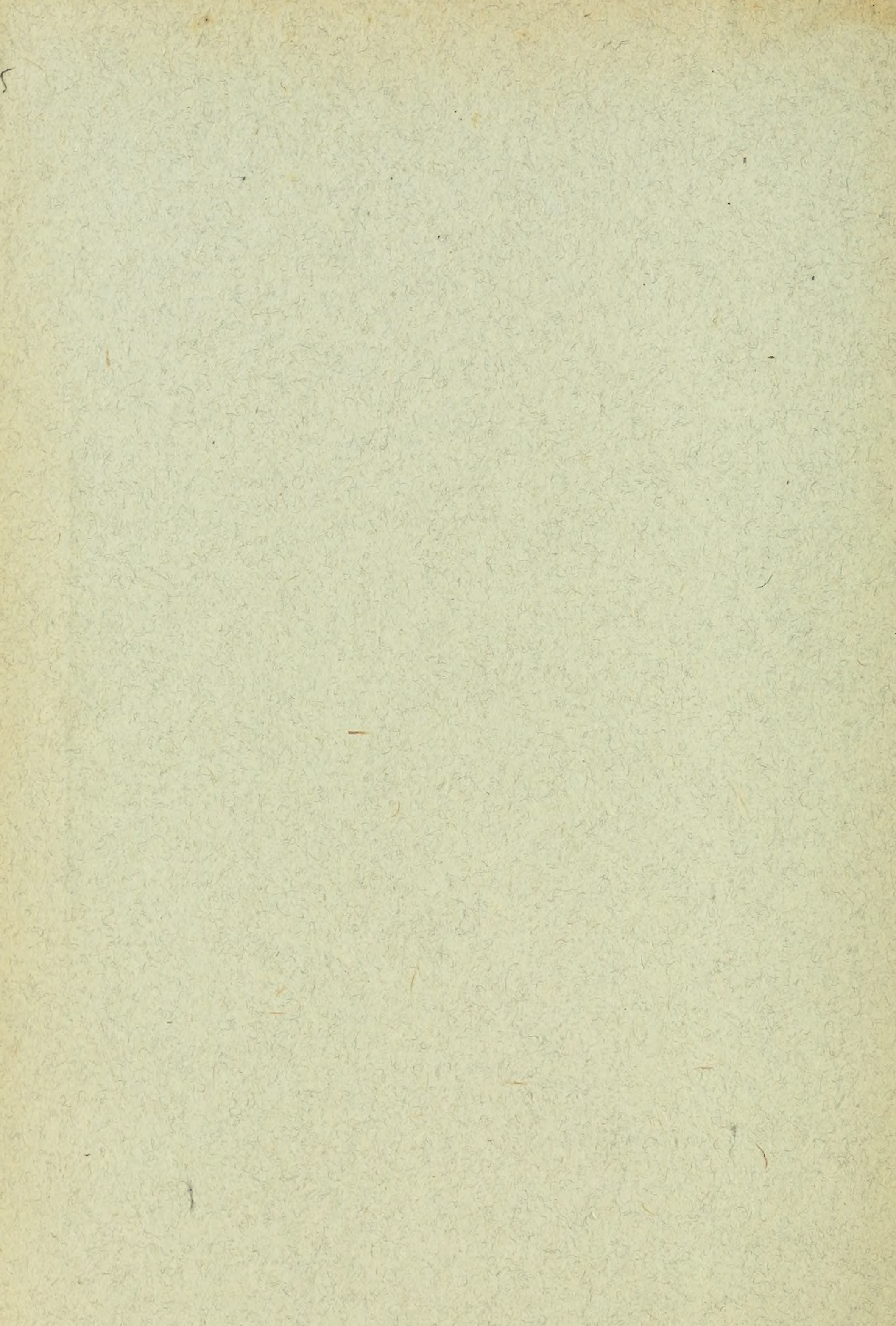
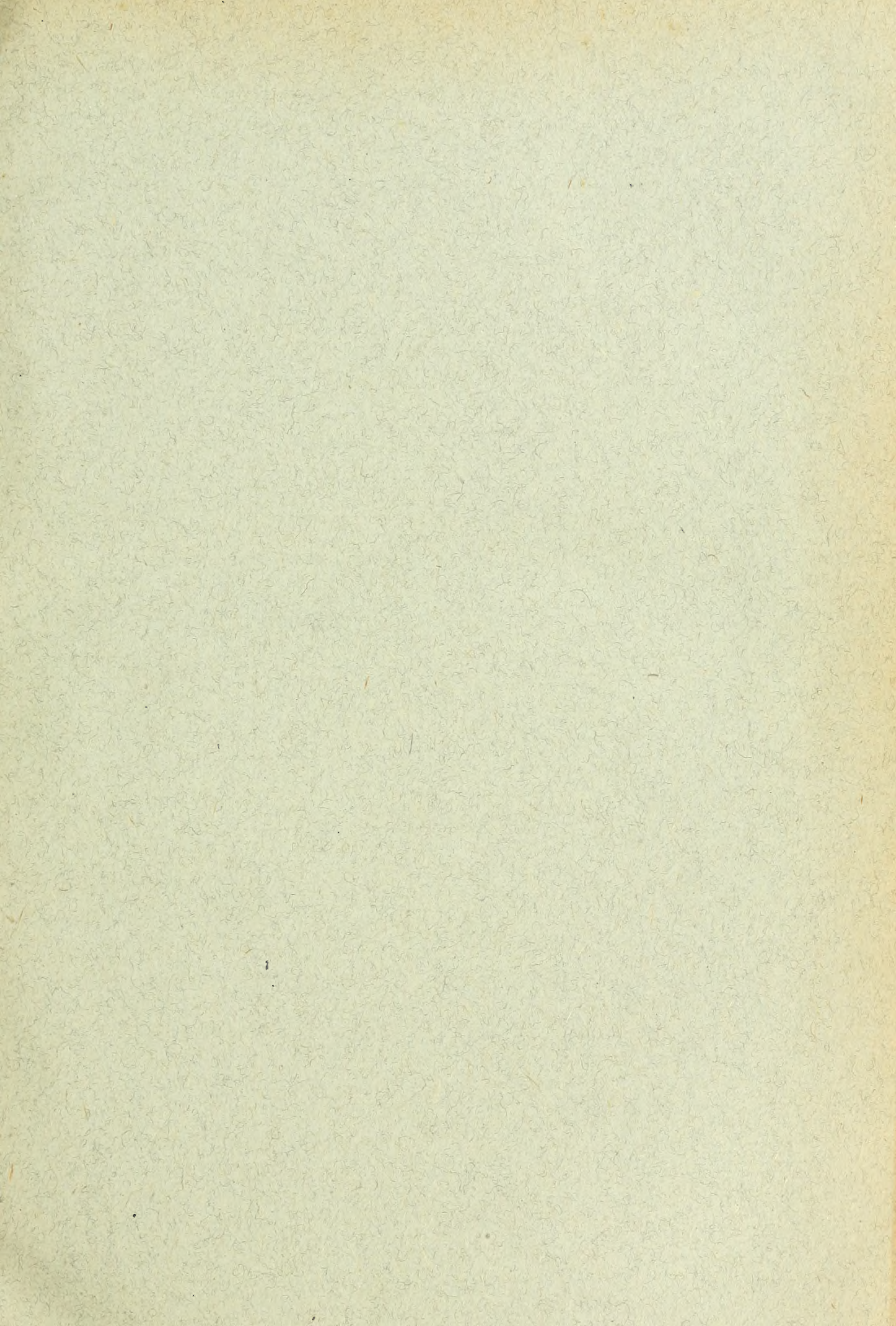
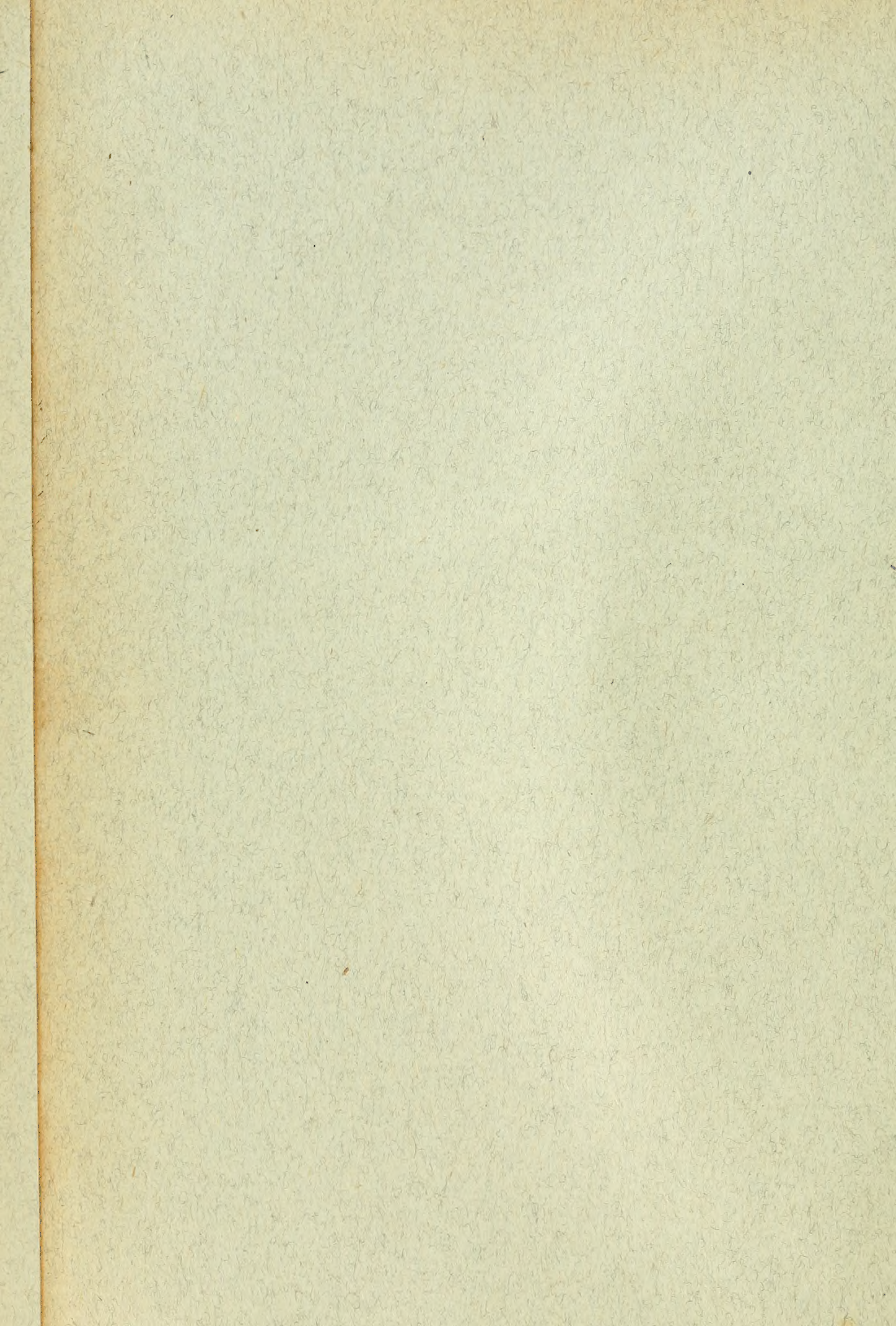
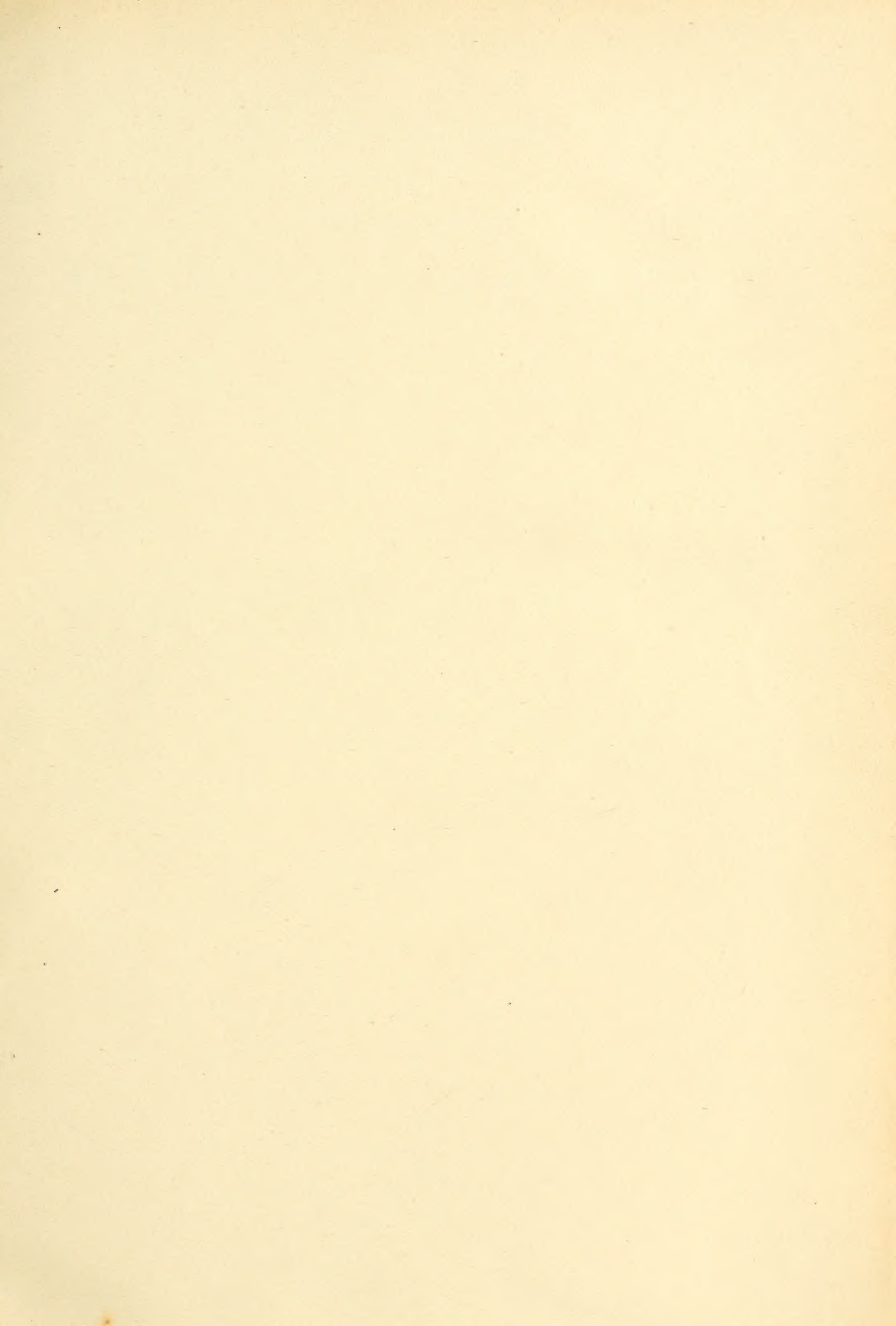












ZEITSCHRIFT
FÜR
WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung
von
Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn und **R. E. Liesegang** in Frankfurt a. M.
herausgegeben
von
Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Bonn

Band 32
(Jahrgang 1915)

Mit 28 Textabbildungen und 4 Tafeln

LEIPZIG
Verlag von S. Hirzel
1915

Inhaltsverzeichnis.

I. Abhandlungen.

II. Referate.

Verzeichnis der Mitarbeiter
an Band 32.

Prof. Dr. H. Ambronn in Jena.
Dr. P. Diettrich in Greiz.
Dr. V. Dürrfeld in Brake i. O.
Prof. Dr. I. Enescu in Bukarest.
Prof. Dr. Eversheim in Bonn.
Prof. Dr. M. Heidenhain in Tübingen.
Prof. Dr. Jan Hirschler in Lemberg.
Dr. A. Kappers in Amsterdam.
Prof. Dr. E. Küster in Bonn.
Dr. Laserstein in Berlin.
Raph. Ed. Liesegang in Frankfurt a. M.
Fritz Lux in Landau.
Prof. Dr. P. Mayer in Jena.
Dr. E. Pollak in Wien.
Ed. Pötter in Jena.
Prof. Dr. W. Scheffer in Berlin-Wilmersdorf.
Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn.
Dr. H. Schneider in Bonn.
Dr. E. Schoebel z. Zt. in Leipzig.
Dr. H. Siedentopf in Jena.
H. Simons in Düsseldorf.
Dr. F. J. Stuurman in Meerenberg (Holland).
Dr. Gertrud Tobler-Wolff in Münster i. W.
Dr. G. C. van Walsem in Meerenberg (Holland).
Dr. E. Wychgram in Kiel.
Prof. Dr. O. Zoth in Graz.

Band 32. Heft 1.

[Mitteilung aus dem Institut für Mikroskopie an der Universität Jena.]

Über das Auflösungsvermögen der Mikroskope bei Hellfeld- und Dunkelfeldbeleuchtung.

Von

H. Siedentopf,
Leiter der Mikroskopabteilung des Zeißwerks in Jena.

Hierzu fünf Textabbildungen und drei Tafeln (Tab. I—III).

Einleitung.

Die Frage nach dem Auflösungsvermögen wird im allgemeinen nach Abbe so beantwortet, daß man angibt, wie sich bei gegebener Wellenlänge des Lichtes und gegebener Apertur des Mikroskopobjektives der kleinste Abstand eines Strichgitters berechnet, der noch abgebildet werden kann. Dabei wird angegeben, daß die Grenze nur bei äußerst schiefer Hellfeldbeleuchtung erreicht werden kann und ferner hinzugefügt, daß zwar dieser Abstand noch richtig wiedergegeben wird, nicht mehr aber weitere Einzelheiten, wie z. B. das Verhältnis von Strichbreite zu Strichabstand.

Damit erhält man eine Regel für die Grenze des Auflösungsvermögens, die für ein *gegebenes Objektiv* eine bestimmte Beleuchtung und ein Idealgitter von bestimmter Feinheit vorschreibt.

Wir wollen nun die Fragestellung nach zwei Richtungen hin erweitern, indem wir erstens untersuchen, wie sich gewisse unrichtig wiedergegebene Bildeinzelheiten verändern, wenn wir bei einem *ge-*

gebenen Gitter die Apertur des Objektives und der Beleuchtung verändern und in einem weiteren Abschnitt erörtern, wie sich die Regel über die Grenze des Auflösungsvermögens bei einer besonderen *gegebenen Beleuchtung* ändert, die wir erhalten, wenn wir die Apertur der Beleuchtung über die des Objektives hinaussteigern, also von Hellfeldbeleuchtung zur schiefen Dunkelfeldbeleuchtung übergehen.

I. Über kohärente Aperturbereiche im Öffnungsbilde bei Hellfeldbeleuchtung von Kreuzgittern.

Ultramikroskopische Bildelemente bei der Abbildung von punktförmigen, linearen und flächenhaften Objekten. Eine jede mikroskopische Abbildung von periodischen Strukturen kann bekanntlich um so mehr als eine streng richtige Projektion des Objektes aufgefaßt werden, je größer die Abstände ihrer optisch wirksamen Elemente sind. Je kleiner aber diese Abstände werden, um so mehr geht durch Beugung am Objekt an Licht für die Abbildung verloren, so daß durch diesen steigenden Beugungsverlust das Bild immer weniger objektähnlich wird. Hierbei erkennt man unter genügender Okularvergrößerung das wachsende Auftreten von Bildelementen, die geeignet sind, uns die Interferenznatur des Bildes zu zeigen.

Aus der Fülle der hier möglichen optischen Erscheinungen heben sich diejenigen heraus, die für die Abbildung von solchen isolierten Objekten kennzeichnend sind, welche nach sämtlichen oder nach zwei zueinander senkrechten Richtungen ultramikroskopisch sind und als punktförmige und als lineare Objekte unterschieden werden. Ihre Bilder sind Beugungsscheibchen und gerad- oder krummlinige Beugungsstreifen, die wir als ultramikroskopische Bildelemente zusammenfassen.

Doch brauchen wir den Begriff der ultramikroskopischen Abbildung nicht auf das Vorhandensein dieser *isolierten* Objekte zu beschränken. Wir können auch bei periodischen Strukturen, die einen *flächenhaften Komplex* regelmäßig angeordneter punktförmiger und linearer Gebilde darstellen, von einem ultramikroskopischen Anteil der Abbildung sprechen, den wir an einem Sonderfall im folgenden erörtern.

Kreuzgitter. Wir wollen uns auf eine flächenhafte Anordnung punktförmiger Objekte beschränken, also flächenhafte Punktsysteme untersuchen und als Sonderfall annehmen, daß wir in einer ebenen, undurchsichtigen Schicht vollkommen durchsichtige Löcher haben, die

so angeordnet sind, daß ihre Schwerpunkte gleichen Abstand von ihren Nachbarlöchern besitzen. Dann müssen diese Schwerpunkte ein System von gleichseitigen Dreiecken bilden. Wir bezeichnen ein solches Objekt als 60° Kreuzgitter, das wir uns künstlich nach dem Vorgange von ABBE dadurch herstellen können, daß wir in zwei auf Glasplatten aufgetragene Silberschichten je mit dem Diamanten ein System äquidistanter gerader Linien ziehen und beide unter 60° gekreuzt übereinanderlegen. Dann werden die Kreuzungspunkte der Liniensysteme die verlangte Anordnung durchsichtiger Löcher ergeben, die sämtlich gleichweit von ihren Nachbarlöchern abstehen.

Beziehungen zum Pleurosigmabilde. Wir wollen uns die Elemente des Kreuzgitters stets so gestellt denken, daß wir von jedem Element eine wagerechte Verbindungslinie zu einem benachbarten ziehen können. Dann sind senkrechte Verbindungslinien benachbarter Elemente überhaupt nicht vorhanden. Ein solches Gitter hat eine bestimmte Beziehung zu der Struktur, die wir auf der Kieselschale der Diatomeenart Pleurosigma angulatum beobachten können. Stellen wir eine solche Diatomee so, daß ihre Mittelrippe senkrecht steht, dann zeigt sich unter dem Mikroskop bei gerader Beleuchtung unter Anwendung von Objektiven von genügender Apertur ein System von Punkten, Kreisen oder Sechsecken, die in den Ecken eines gleichseitigen Dreiecks liegen, wie die Löcher unseres 60° Kreuzgitters.

Freilich hört damit die Ähnlichkeit beider Objekte auf. Von den Unterschieden, die sie besitzen, heben wir hervor, daß bei der Diatomee nicht alle Punkte genau unserer geometrischen Forderung entsprechend liegen. Die Anordnung zeigt auf beiden Schalenhälften eine leichte Verdrehung, und eine andere leichte Verdrehung erkennen wir, wenn wir die Enden derselben Schale mit der Mittelpartie vergleichen. Bei der Diatomee handelt es sich ferner vermutlich um einen anisotropen Körper, während unser 60° Kreuzgitter durchweg als isotrop vorausgesetzt ist. Auch zeigt die Beobachtung, daß die an der Diatomeenstruktur abgebeugten Strahlenbündel von ungleicher Intensität und teilweise polarisiert sind, während wir bei unserm Kreuzgitter gleiche Intensität und Fehlen von Polarisation voraussetzen.

Ultramikroskopische Löcher. An unserem Idealobjekt wollen wir weiterhin festsetzen, daß die Dimensionen der Löcher ultramikroskopisch seien, doch soll das gleiche nicht von ihrem Abstand gelten. Wir setzen ausdrücklich fest, daß ihre Abstände noch bei geradem Licht mikroskopisch auflösbar sind. Bezeichnen wir den Abstand

mit d, so würde also $d \geqq \lambda/a_0$ sein, wo unter λ die Wellenlänge des angewandten Lichtes und unter a_0 die numerische Apertur des Objektives verstanden ist.

Diese Definition läßt übrigens erkennen, daß der Begriff des ultramikroskopischen ein relativer ist, abhängig von der Wellenlänge und den Aperturen des Objektives und der Beleuchtung. Es kann also dasselbe Strukturelement für eine andere kürzere Wellenlänge oder für ein anderes stärkeres Objektiv aufhören ultramikroskopisch zu sein, falls nämlich dann d größer als jener Bruch wird.

Man könnte nun meinen, daß es nach dem Auseinandergesetzten leicht sei, am Bilde unseres flächenhaften Punktsystems die ultramikroskopischen Bestandteile zu erkennen. Wir würden erwarten, daß die Löcher als kreisrunde Beugungsscheibchen erscheinen. Dabei könnten wir aus ihrem Aussehen nichts über die eigentliche Gestalt der Löcher aussagen, eben weil ihre Abbildung ultramikroskopisch ist. Dagegen wäre der Abstand, den die Löcher voneinander haben, richtig abgebildet.

Allein die Beobachtung zeigt unter gewissen Bedingungen verschiedene Abweichungen in dem Aussehen jener Löcher, die geeignet sind, uns zu irrtümlichen Ansichten zu bringen, z. B. daß ihre Dimensionen nach der einen oder anderen Seite hin die ultramikroskopische Grenze überschreiten.

Es ist der Zweck des Folgenden, einige wichtige Faktoren aufzuzählen und ihr Einzel- und Zusammenwirken nachzuweisen, die diese Veränderungen bewirken können.

Bei den positiven Beugungsscheibchen, die man im Dunkelfelde erhält, habe ich bereits in einer früheren Mitteilung (9) auf Veränderungen in ihrem Aussehen hingewiesen, die man experimentell durch künstliche Blenden erzeugen kann, die man in der Nähe der hinteren Brennebene des Mikroskopobjektives anbringt. Je nach der Gestalt dieser Blenden war das Aussehen der positiven Beugungsscheibchen ein verschiedenes. Ich beabsichtige im folgenden zu zeigen, wie noch durch andere Ursachen und bei Hellfeldbeleuchtung das Aussehen der Beugungsscheibchen erheblich beeinflußt wird. Denn ähnlich wie reelle Blenden in der hinteren Brennebene des Mikroskopobjektives wirken, wie wir sehen werden, je nach der Größe der Iris-Blendenöffnung unter dem Kondensor und je nach der Apertur des Objektives statt der ganzen Öffnung des letzteren nur einzelne Bestandteile derselben, die der Zahl, der Größe und der Anordnung nach veränderlich sein können und infolgedessen eine verschiedene Form der Beugungsscheibchen verursachen.

Wir vereinfachen uns für das Folgende die Betrachtungen, ohne an der Allgemeinheit unserer Ergebnisse Wesentliches einzubüßen, indem wir stets Licht der gleichen Wellenlänge zur Beleuchtung voraussetzen. Wir wollen ferner im ersten Teil dieses Abschnittes annehmen, daß auch die wirksame Apertur der Beleuchtung stets dieselbe sei, daß dagegen die numerische Apertur des Objektives verschiedene Werte annehmen möge. Wir werden in einen späteren Teil unserer Betrachtung alsdann die umgekehrte Annahme einführen, daß die Apertur des Objektives konstant sei und die numerische Apertur der Beleuchtung variiere. Erst danach ist es möglich, für den allgemeinen Fall beliebiger Apertur der Beleuchtung und des Objektives weitere Folgerungen zu ziehen.

Beugungsbilder der Irisblende. Das Kreuzgitter wird einen Teil der beleuchtenden Strahlen durch Beugung nach deren bekannten Gesetzen zerstreuen. Wir erkennen experimentell diese Wirkung, indem wir nach Einstellung des mikroskopischen Bildes das Okular herausnehmen und das Öffnungsbild betrachten. Dieses ist das reelle Bild der Lichtquelle oder der als Lichtquelle wirkenden Eintrittsöffnung des Mikroskopes, das in der hinteren Brennebene des Objektives oder in der Nähe derselben durch das Zusammenwirken von Kondensor, Objekt und Objektiv entworfen wird. Bei gerader Beleuchtung ist sein Aussehen derartig, daß wir nicht ein einfaches Bild der Lichtquelle beobachten, sondern eine periodische Wiederholung desselben, die ebenfalls wie ein Kreuzgitter angeordnet ist, nur mit dem Unterschied, daß die Verbindungslinien der Bildpunkte im Öffnungsbilde senkrecht zu den Verbindungslinien der Öffnungen des Kreuzgitters stehen. Während also bei letzterem in der angenommenen bestimmten Lage die Verbindungslinien von zwei benachbarten senkrecht zur Symmetrieebene des Mikroskopes liegen, werden wir solche Verbindungslinien im Öffnungsbild nicht vorfinden, sondern außer den schräg verlaufenden nur solche, die parallel der Symmetrieebene des Mikroskopes liegen. Wir wollen diese Anordnung der Elemente des Öffnungsbildes als eine polare bezeichnen im Verhältnis zur Anordnung im Objekt, in Anlehnung an einen Sprachgebrauch der Geometrie, durch welchen Dreiecke, deren Seiten zu gegebenen Dreiecken senkrecht stehen, als Polardreiecke bezeichnet werden.

Das Auftreten solcher Beugungserscheinungen ist bereits von Fraunhofer untersucht, der auch für Strichgitter, sowohl für gerade wie für schiefe Beleuchtung die Formeln bekannt gab, nach denen sich der Abstand der Beugungsbilder aus der Gitterkonstante, der

Wellenlänge und der Neigung der beleuchtenden Strahlen bestimmt. Diese Formeln wurden auch von Flögel (1) benutzt, um aus den Beugungsbildern, die Diatomeen im Mikroskop ergeben, den Abstand der Streifen auf den Schalen zu berechnen.

Es ist Abbes Verdienst, auf eine spezifische Wirkung dieser abgebeugten Büschel hingewiesen zu haben, die sie für die Entstehung des mikroskopischen Bildes besitzen. Er zeigte, daß sie nicht, wie mehrfach zerklüftete Strahlenbüschel lediglich eine Vermehrung der Bildhelligkeit gegenüber der Wirkung des unabgebeugten Lichtes verursachen, sondern daß ihre Mitwirkung für die Entstehung des Bildes überhaupt unerläßlich ist, mit anderen Worten, daß das mikroskopische Bild als Interferenzerscheinung aufzufassen sei, die aus dem Zusammenwirken der Beugungsstrahlen miteinander oder mit den unabgebeugten Lichtstrahlen in der Bildebene hervorgerufen wird. Insbesondere verschwindet das Bild vollkommen, wenn die Beugungsstrahlen durch künstliche Blenden verhindert werden, an der Bilderzeugung außer den nichtabgebeugten Lichtstrahlen teilzunehmen.

Das Auftreten dieser Interferenzwirkung und damit die Bildentstehung ist aber an ganz bestimmte Bedingungen geknüpft, die diese Beugungsbüschel erfüllen müssen. Es könnte z. B. kein Bild entstehen, wenn nur zwei Beugungsbüschel vorhanden wären, die durch irgendeinen Prozeß senkrecht zueinander polarisiert wären, weil senkrecht zueinander polarisiertes Licht nach bekannten Grundgesetzen der Optik interferenzunfähig ist. Sie müssen ferner verschiedene Bilder ergeben, wenn das Licht in den verschiedenen Beugungsbüscheln in verschiedener Phase schwingt, oder von wechselnder Intensität ist, sie müssen aber stets das gleiche und unverschobene Bild ergeben, wenn wir z. B. die Beugungserscheinungen im Öffnungsbilde in ihrer Ebene verschieben. Bei einer Drehung des Öffnungsbildes muß sich auch das Bild im gleichen Sinne und gleichen Betrage drehen.

Kohärente Teile der Beugungsbilder. Die wichtigste Bedingung für das Zusammenwirken der Beugungsbilder zu einem Interferenzeffekt, der ein Bild liefert, ist die Kohärenz der Lichtschwingungen in den verschiedenen Teilen der in der hinteren Brennebene liegenden Beugungsbilder der Irisblende, die zusammen wirken sollen.

Hierunter versteht man den Schwingungszustand von Strahlen, die von demselben Punkte der Lichtquelle stammen. Wirkt z. B. eine beleuchtete Irisblende unter dem Mikroskop als Lichtquelle, so werden die verschiedenen Teile der Irisöffnung nicht kohärent schwingen und auch das Bild der Irisblende, das das Objektiv, ohne Vorhanden-

sein eines Objektes allein als Öffnungsbild entwirft, entsendet von seinen einzelnen Stellen Strahlen, die sämtlich inkohärent, also interferenzunfähig sind. Legt man aber ein beugendes Objekt, wie etwa das Kreuzgitter, unter das Mikroskop, so entstehen durch Beugung des Lichtes neue Bilder der Irisblende im Öffnungsbilde. In diesen wiederholten Öffnungsbildern sind alle homologen Stellen in kohärentem Schwingungszustande, weil die ihnen entsprechenden Lichtstrahlen von demselben Punkte der Lichtquelle herkommen.

Wir werden die homologen Punkte zu Gruppen zusammenfassen können, die sämtlich gleiche Orientierung der Lichtpunkte auf den verschiedenen Öffnungsbildern der Iris geben. Da jede Gruppe als Ganzes nur eine verschobene Lage gegenüber den anderen Gruppen zeigt, entwerfen sämtliche Gruppen dasselbe Bild, sie verstärken sich also gegenseitig.

Nun zeigt sich aber, wie wir im folgenden eingehender sehen werden, daß sich im allgemeinen nicht alle Punkte des Öffnungsbildes in dieser einfachen Weise zusammenordnen lassen, sondern es können noch Gruppen übrigbleiben, die nach der Zahl und der Anordnung ihrer leuchtenden Elemente von den anderen Gruppen verschieden sind, die also für sich abweichende Bilder liefern müssen. Das Gesamtbild wäre also eine Übereinanderlagerung verschiedener Bilder, je nach der Anzahl der verschiedenartigen Gruppen, die im Öffnungsbilde auftreten können.

Dabei ist zu beachten, daß die Verschiedenartigkeit dieser Bilder nur aus den verschiedenen Gruppen des Öffnungsbildes entspringt, denn das Objekt soll nach der Voraussetzung stets dasselbe bleiben.

Das Auftreten derartiger verschiedener Gruppen und verschiedener sich übereinander lagernder Bilder wird in der praktischen Mikroskopie dadurch bestimmt, daß im allgemeinen keine bestimmten Verhältnisse zwischen der Öffnung der Irisblende unter dem Mikroskop, die die lichtgebende Öffnung vertritt und der numerischen Apertur des Objektives obwalten. Es würde auch gar nicht möglich sein, hier für die praktische Mikroskopie einheitliche Vorschriften bei einem beliebig zusammengesetzten Objekte zu geben, weil jede Strukturfeinheit und Strukturanordnung verschiedene Vorschriften erfordern würde, die sich nicht auf einmal verwirklichen lassen. Wohl aber kann man das in einfachen Fällen, wie z. B. bei dem Kreuzgitter.

Homologe Stellen im Öffnungsbild. Es ergibt sich nun vorher die Frage, nach welchem Verfahren die homologen Teile im Öffnungsbilde aufgefunden werden können. Bei der Beantwortung dieser Frage

wollen wir im folgenden zunächst eine konstante Öffnung der Irisblende voraussetzen und nur die Apertur des Objektives ändern, dessen Brennweite der einfacheren Übersicht halber konstant bleiben soll.

Wir wollen im folgenden Teil der Untersuchung als konstante Öffnung der Irisblende diejenige wählen, die sich ergibt, wenn wir die Forderung aufstellen, daß sich im Öffnungsbilde die sämtlichen Beugungsbilder der Irisblende berühren sollen. Setzen wir die Gestalt der Iris als kreisrund voraus, so erhalten wir bei unserem Kreuzgitter im Öffnungsbild ein System von Kreisflächen, die sich sämtlich berühren und so stehen, daß wir außer schrägen Verbindungslinien benachbarter Kreismittelpunkte auch solche finden, die parallel der Symmetrieebene des Mikroskopes liegen.

Bei dieser Öffnung der Iris kommt den Strahlen der Beleuchtung, die vom Rande der Iris ausgehen, eine bestimmte Neigung gegen die Mikroskopachse zu, deren numerische Apertur wir mit a_k bezeichnen wollen. Diese numerische Apertur der Beleuchtung steht nach unserer Annahme in einer einfachen Beziehung zur Strukturfeinheit unseres Objektes und damit zu derjenigen Apertur a_s, die im Öffnungsbilde dem Abstande benachbarter Kreismittelpunkte entspricht. Es ist aus der Bedingung, daß sich die Kreise berühren sollen, leicht einzusehen, daß $a_s = 2a_k$ ist, denn a_k ist der Halbmessser der sich berührenden Kreise, deren Mittelpunktsabstand gleich a_s ist.

Das Verfahren nun, nach dem man die homologen Stellen im Öffnungsbild zu bestimmen hat und das selbstverständlich nicht an dieses besondere Verhältnis von a_s und a_k allein gebunden ist, sondern für jedes Verhältnis dieser Größen gilt, besteht im folgenden:

Man schlage um alle Kreismittelpunkte im Öffnungsbilde, auch um die außerhalb fallenden, Kreise von demjenigen Durchmesser, der der numerischen Apertur des gerade benutzten Objektives entspricht.

Nehmen wir der Einfachheit halber die Brennweite des Objektives gleich Eins an, so können wir alle Aperturen direkt als Längen in einer solchen Zeichnung abtragen. Wir wollen uns weiter im folgenden auf das zentrale Bild der Iris und den ersten Kranz von sechs benachbarten gleichgroßen Beugungsbildern im Öffnungsbilde beschränken. Eine Erweiterung auf die übrigen Kränze würde uns prinzipiell nichts wesentlich Neues geben; sie wäre im übrigen genau nach dem gleichen Schema durchzuführen.

Farbige Darstellung der kohärenten Teile im Öffnungsbilde bei gleicher Irisöffnung. In Tafel I, Figur 1, sind für sechs ver-

schieden große Aperturen des Objektives jedesmal diese Hilfskonstruktionen durchgeführt. Wir erkennen darin eine große Anzahl von Kreis-Zwei-, Drei-, Vier-, Fünf- und Sechs-Ecken, in welche die Vollkreise der Irisblendenbilder abgeteilt werden. Durch Zuhilfenahme von Farben sind die verschiedenen homologen Stellen derart verdeutlicht, daß rot diejenigen erscheinen, welche siebenfach im Öffnungsbilde auftreten. Die sechsfach vorhandenen sind gelb, die fünffachen grün, die vierfachen blau, die dreifachen violett und die zweifachen grau angelegt. Dabei ist zu beachten, daß die gleichfarbigen Stellen in verschiedenen Gruppierungen auftreten können, von denen jeweilig eine durch einen tieferen Farbenton besonders herausgehoben ist.

So erkennen wir z. B. in *c* tiefblaue Kreisdreiecke, deren längliche Gestalt die Spitze nach oben kehrt. Ihre Schwerpunkte liegen in den Ecken eines Rhombus, dessen lange Diagonale horizontal liegt. Bei genauerer Betrachtung erkennt man in *c* noch eine zweite blaue Gruppe von vier homologen Kreisdreiecken, deren Spitze nach unten gerichtet ist und deren lange Diagonale ebenfalls horizontal liegt. Diese Gruppe ist um eine halbe Irisblendenöffnung nach unten gegen die erste verschoben. Außerdem findet man aber noch zweimal zwei Gruppen zu je vier homologen, hellblau angelegten Kreisdreiecken, deren lange Diagonale schräg von links unten nach rechts oben und schräg von rechts unten nach links oben verläuft. Um das Bild *c* nicht zu verwirren, sind diese Gruppen darin nicht besonders hervorgehoben. Dafür findet man im Bilde *d* eine tiefblaue Gruppe von vier homologen Stellen mit schräg liegender, langer Diagonale zwischen ihren Schwerpunkten und im Bilde *e* eine andere, deren lange Diagonale zu *d* symmetrisch schräg geneigt ist. In diesen Bildern sind je die anderen blauen Gruppen nicht besonders kenntlich gemacht. Wir merken uns hiernach, daß in den Bildern *c*, *d* und *e* die Vierergruppen in je drei Verdrehungen auftreten. Wir werden nachher sehen, daß jede für sich ein anderes Bild vom Objekt erzeugt.

Einfacher liegen die Verhältnisse bei den Dreiergruppen, die homologe Stellen darstellen, die nur in der Dreizahl auftreten. Wir finden sie, verdeutlicht durch violette Farbe, als Kreisdreiecke in *b* und in *c*. Jeweils ist wieder eine zusammengehörende Gruppe durch einen tiefvioletten Farbenton aus den hellviolett angelegten übrigen besonders herausgehoben. Wir sehen, daß ihre Schwerpunkte in den Ecken gleichseitiger Dreiecke liegen, die immer eine vertikal stehende Seite haben. Die Dreiergruppen kommen nur in einer Lage vor:

die verschiedenen gleichzeitig im Öffnungsbild vorhandenen Dreiergruppen haben nur eine verschobene Lage zueinander, sie sind aber nicht auch, wie die Vierergruppen, gegeneinander verdreht. Die Dreiergruppen können deshalb nur *ein* typisches Hauptbild liefern, wenn wir von der geringfügigen und später noch zu erläuternden Modifikation absehen, die durch die verschiedene Gestalt der Kreisdreiecke erzeugt wird.

Bei der kleinsten dargestellten Objektivöffnung, die durch den äußeren Kreis in *a* vorgestellt wird, treten nur Zweiergruppen als homologe Teile der Irisblendenbilder auf. Man überzeugt sich leicht, daß sie in dreimal zwei Gruppen vorhanden sind, von denen je zwei eine gegeneinander verschobene Lage haben, die in drei Verdrehungen auftritt. Die gegeneinander verschobenen Gruppen erzeugen gleiche, die gegeneinander verdrehten Gruppen verschiedene Bilder. Analoge Zweierbilder sind übrigens auch in *b* vorhanden.

Es ist bemerkenswert, daß in den Bildern *a* und *b* zur Mittelpartie des zentralen Irisbildes keine homologen Teile der Nebenbilder im Öffnungskreis des Objektives vorhanden sind. Diese weiß gelassenen Stellen können demnach kein Bild erzeugen, sie wirken wie falsches Licht, das die von den Zweier- und Dreiergruppen gelieferten Bilder überstrahlt. Man sollte deshalb besser in diesen Fällen die mittlere Partie der Irisblende durch eine zentrale Blende unwirksam machen, worauf wir später noch zurückkommen werden.

Eine große Mannigfaltigkeit der bilderzeugenden Gruppen finden wir im Bilde *d*. Wir sehen hier außer den bereits erörterten, durch blaue Farbe verdeutlichten Vierergruppen, auch Fünfer-, Sechser- und Siebenergruppen. Die dunkelgrün angelegte Fünfergruppe zeigt Kreisvierecke, deren spitze Ecke nach links unten weist. Je drei und zwei dieser Kreisvierecke liegen in einer Reihe. Die Fünfergruppen treten je zweimal in drei Verdrehungen auf. Je eine der beiden anderen Verdrehungen ist dunkelgrün in *e* und *f* hervorgehoben.

Auch die gelb angelegten Sechsergruppen treten je zweimal in drei Verdrehungen auf, deren Orientierung je einmal in *d*, *e* oder *f* durch dunkelgelbe Farbe betont ist. Die Siebenergruppe tritt in diesen Bildern je einmal auf (rote Farbe).

Überblicken wir vergleichsweise die sechs Bilder der Figur 1, so erkennen wir, daß mit wachsender Öffnung des Objektives immer höhere Gruppen wirksam werden und daß zweitens der Anteil der höheren Gruppen innerhalb der Öffnung immer bedeutender wird, während der Anteil der niederen Gruppen immer kleiner wird und

sogar zum Verschwinden kommen kann. Im allgemeinen ist aber stets eine mannigfaltige Zusammensetzung der für sich bilderzeugend wirkenden homologen Gruppen, verursacht durch die Abschneidung des Randes der Nebenirisbilder durch den Objektivrand, vorhanden. Deshalb wird das eigentliche Mikroskopbild die Summe von einer größeren Anzahl Teilbilder darstellen, die für jede Verdrehung oder andere Zusammensetzung der Gruppe verschieden ausfallen.

Farbige Darstellung der kohärenten Teile bei gleicher Objektivöffnung. Ehe wir aber dem Studium dieser Teilbilder uns zuwenden, wollen wir noch die Veränderungen besprechen, die auftreten, wenn wir bei konstanter Objektivöffnung die Weite der Kondensoriris verändern. Wir beschränken uns hierbei auf den Sonderfall der kleinsten Objektivöffnung von Figur 1. Wir hatten bisher die Irisöffnung so groß gewählt, daß ihre Nebenbilder, die durch Beugung an unserem Präparat entstanden, sich gegenseitig berührten. Ziehen wir die Iris so weit auf, daß keine Teile der Nebenbilder mehr vom Objektiv aufgenommen werden können, so kann aus Mangel an zugehörigen homologen Stellen keine Bilderzeugung eintreten. Erst wenn bei weiterer Öffnung die äußersten Zipfel als sechs Kreiszweiecke wie bei *a* in Figur 2 der Tafel I in die Objektivöffnung eintreten, finden wir in den grau angelegten Teilen je drei Zweiergruppen in drei Verdrehungen. Zur Verdeutlichung sind übrigens die Ränder der Irisbilder blau gezeichnet. Ein großer Teil der Objektivöffnung bleibt schwarz, weil er überhaupt kein Licht empfängt. Das innere weiße Kreissechseck vermittelt eine Strahlung, die an der Bilderzeugung nicht teilnimmt, weil hierzu keine homologen Stellen in der Objektivöffnung vorhanden sind. Wir wollen sie als *falsches Licht* bezeichnen, da sie das Bild lediglich verschleiert.

Öffnen wir, wie bei *b* der Figur 2, die Iris weiter, so überschneiden die Nebenbilder teilweise das Hauptbild der Iris. Außer den Zweiergruppen treten die Dreiergruppen auf. Der schwarz gelassene lichtleere Teil der Objektivöffnung ist gegen *a* verkleinert. Die Größe des falsches Licht vermittelnden zentralen Teils des Hauptbildes der Iris ist unverändert geblieben.

Bei *c* ist die Iris bereits so weit geöffnet, daß keine lichtleeren Teile in der Objektivöffnung mehr vorhanden sind. Die Helligkeit der Bilder aus den Dreiergruppen ist gestiegen.

Schließlich ist bei *d* die Iris so weit geöffnet, daß ihr Bild gleich der Objektivöffnung geworden ist. Für die Bilderzeugung hat sich gegen vorher nichts geändert, da lediglich die Zuordnung der Elemente

der Dreiergruppen einfacher geworden ist, ohne daß ihre Gesamtgröße sich geändert hatte.

Würden wir die Iris noch weiter öffnen, so würden wir nichts weiter erreichen, als den Anteil des falschen Lichtes zu vermehren, da, wie leicht zu sehen ist, die Elemente des weißen Kernes im Öffnungsbilde durch die auf sie fallenden Außenränder der Irisnebenbilder gewissermaßen doppelt zählen. Denn auch für diese Teile der Außenränder können keine homologen Teile im Öffnungsbilde vorhanden sein.

Regeln für Beseitigung des falschen Lichtes. Es läßt sich leicht die Bedingung dafür aufstellen, daß der Fall vorliegt, daß die zentralen Teile der Iris für die Bilderzeugung unwirksam werden, also durch falsches Licht das durch die Wirkung der Randteile der Iris entstehende Bild verschleiern. Das ist der Fall, wenn die Kreise, die um die Mittelpunkte des ersten Kranzes dem Hauptbilde benachbarter Irisnebenbilder von der Größe der Objektivöffnung geschlagen werden, das Zentrum nicht erreichen, so daß dieses außerhalb der Hilfskreise fällt. In analytischer Fassung können wir dafür auch sagen: Diejenigen Teile der Hellfeldbeleuchtung, deren Apertur kleiner als die Differenz

$$a_s - a_0$$

ist, sind für die Abbildung schädlich.

Ob die anderen Teile für eine Abbildung förderlich sein können, hängt davon ab, daß die Objektivöffnung groß genug ist, überhaupt Zipfel der Hilfskreise aufzunehmen. Das ist augenscheinlich nicht der Fall, wenn die Objektivapertur kleiner als die Hälfte von a_s ist.

Soweit wir die Wirkung kohärenter Aperturbereiche im Öffnungsbilde in Betracht ziehen, können wir aus vorstehendem beispielsweise für die richtige Beleuchtung von Pleurosigma angulatum, deren Schalenstruktur, wie wir eingangs ausführten, angenähert unserm Idealobjekt entspricht, folgende Vorschrift ableiten, wenn wir beachten, daß für dieses Objekt bei passender Wellenlänge des Lichtes ungefähr $a_s = 1$ ist.

Sie bleibt ungelöst, wenn a_0 kleiner als 0·5 ist. Liegt aber die Objektivapertur zwischen 0·5 und 1, so öffne man die Iris, bis ihr Hauptbild die Objektivöffnung gerade erfüllt und lege eine Zentralblende ein, deren Apertur gleich $1 - a_0$ ist; z. B. 0·35, wenn wir mit dem Objektiv *D* von 0·65 Apertur beobachten. Das entstehende Bild ist dann eine Übereinanderlagerung von drei Bildern, die den Zweiergruppen und von einem Bilde, das den Dreiergruppen ent-

spricht, ferner kommen, wie man leicht aus den Figuren ableitet, noch drei weitere Bilder hinzu, die aus den drei Vierergruppen entstehen, wenn die Objektivapertur größer als $a_s \cos 30^0$ ist.

Wenn die Objektivapertur größer als a_s ist, können wir ebenfalls eine Beleuchtungsvorschrift aufstellen, natürlich immer, soweit nur die Wirkung der kohärenten Aperturbereiche in Frage kommt. Wir erkennen aus den Bildern d, e und f der Figur 1 sofort, daß lediglich die Siebenergruppe wirksam wird, wenn wir die Iris soweit zuziehen, daß ihre Bilder nur die rot angelegten Felder decken. Dann ist die Apertur der Beleuchtung gleich dem Betrage, um den die Objektivapertur größer als a_s ist, oder in Formelsprache:

$$a_k = a_0 - a_s.$$

Geübten Mikroskopikern ist schon längst die empfindliche Abhängigkeit des Bildes von der Irisöffnung aufgefallen und manche Autoren sind bereits soweit gegangen, bestimmte Vorschriften für die Öffnung anzugeben. Insbesondere sind für das Pleurosigmabild empirische Vorschriften von Nelson (2) u. a. angegeben, die ohne die von uns gegebene Begründung zu kennen, doch schon auf ähnliches hinauskommen, wie wir hier abgeleitet haben. Das Probieren hat also auch hier schon praktische Früchte getragen, wenn wir auch keineswegs in den Einzelheiten jenen empirischen Vorschlägen folgen.

Die Zweierbilder. Nachdem wir die Anordnung der kohärenten Aperturbereiche im Öffnungsbild bestimmt haben, ist es von Interesse, die einzelnen Bilder zu untersuchen, die jeder Gruppe und ihrer Lage entsprechen. Ähnlich wie die Gruppen werden wir auch die ihnen entsprechenden Elementarbilder als Zweier-, Dreier- usw. Bilder unterscheiden.

Zur mikrophotographischen Aufnahme dieser Elementarbilder wurde die zentrisch gestellte Irisblende soweit geöffnet, daß ihre Beugungsbilder im Öffnungsbilde des Objektives sich berührten. Die Apertur des Objektives wurde so groß gewählt, daß der erste Kranz von sechs Beugungsbildern gerade vom Objektiv voll aufgenommen werden konnte. Dann wurde in der Ebene dieses Öffnungsbildes ein geeigneter Blendenträger befestigt, der mit sieben Löchern versehen war, durch welche die sieben Bilder der Irisblende ungehindert hindurchtreten konnten. Um nun z. B. das Zweierbild zu erzeugen, wurden fünf Löcher durch Auflegscheiben zugedeckt, so daß nur zwei benachbarte Löcher freiblieben. Selbstverständlich stand der Blendenträger in polarem Azimut zu dem System ultramikroskopischer

Löcher unseres Objektes, d. h. seine Lochmittelpunkte lagen in den Ecken gleichseitiger Dreiecke, die eine vertikale Verbindungslinie besaßen, wenn, wie wir immer voraussetzen, das Objekt so liegt, daß seine Lochmittelpunkte in den Ecken gleichseitiger Dreiecke liegen, die eine horizontale Seite haben.

Wir wollen zunächst zur Erzeugung eines Zweierbildes fünf Löcher des äußeren Kranzes abdecken, derart, daß außer dem zentralen Irisbild nur noch eins vom äußeren Kranz zur Wirkung kommen kann. Wir wählen hierzu dasjenige, das im Azimut 60^0 liegt, wobei wir festsetzen, daß das Azimut 0^0 oben liegt und nach rechts herum, wie im Sinne der Drehung des Uhrzeigers gezählt wird. Das hieraus entstehende Zweierbild ist ein System von parallelen geraden Linien, die senkrecht zum 60^0 Azimut verlaufen.

Ein anderes Zweierbild entsteht, wenn wir vom äußeren Kranz nur das nach unten im Azimut 180^0 liegende Irisbild mitwirken lassen. Wir erhalten ein horizontales Streifensystem. Das dritte Zweierbild entsteht, wenn z. B. das äußere mitwirkende Irisbild im Azimut 120^0 liegt. Auf der linken Seite von Figur 3, Tafel II, sind diese drei Zweierbilder mit ihren zugehörigen Öffnungsbildern abgebildet. Es ist leicht zu ersehen, daß jede andere Zweiergruppe eins dieser Bilder liefern muß, da sie höchstens in verschobener, nicht aber in anderer Verdrehung oder in anderem Abstand ihrer Komponenten im Öffnungsbild vorhanden sein kann, solange wir uns auf Gruppen benachbarter Irisbilder beschränken.

Das Dreierbild. In derselben Figur finden wir rechts unten das Dreierbild und daneben den Typus der Dreiergruppe. Wir finden statt der Streifen kreisrunde Lichtflecken, sogenannte Beugungsscheibchen, deren Verbindungslinien so wie die Streifen der Zweierbilder liegen. Es sei bemerkt, daß diese Bilder aus mikrophotographischen Aufnahmen zusammengestellt sind, bei denen so exponiert wurde, daß das Zentrum der Beugungsscheibchen richtig belichtet wurde. Etwa vorhandene Nebenerscheinungen an den Beugungsscheibchen sind daher in diesen und den anderen Bildern nicht mit wiedergegeben.

Das Siebenerbild. Eine große Ähnlichkeit besitzt das Siebenerbild, das wir auf der rechten Seite der Figur 3 über dem Dreierbild finden. Der Rand der kreisförmigen Beugungsscheibchen erscheint aber schärfer begrenzt und ihr Durchmesser kleiner.

Die Sechserbilder. Zur Ergänzung haben wir rechts oben in der Figur 3 ein Sechserbild angefügt, das bei der vorausgesetzten

Hellfeldbeleuchtung nicht auftreten kann, sondern das einer sogenannten geraden Dunkelfeldbeleuchtung entspricht. Es gehört daher streng genommen nicht in die Betrachtungen dieses Abschnitts. Es illustriert aber besser als alle anderen Bilder die Interferenznatur der Abbildung, weil die sekundären Interferenzerscheinungen an den Beugungsscheibchen viel lichtstärker und mannigfaltiger im Dunkelfeld zu sehen sind. Der Durchmesser der Beugungsscheibchen ist größer als im Dreierbild. Sie sind ferner von einem verhältnismäßig scharf ausgeprägten schwarzen Ring umgeben und besonders auffällig ist, daß ihre Zwischenräume nicht schwarz erscheinen, wie in allen andern Bildern, sondern etwas aufgehellt, wenn auch nicht so hell, wie das Zentrum der Scheibchen.

Die Fünferbilder. In einer weiteren Figur 4, auf Tafel II, haben wir die Fünfer- und die Sechserbilder vereinigt. Die drei untereinander auf der linken Seite der Figur liegenden Fünferbilder zeigen eine eigentümliche elliptische Verlängerung der Beugungsscheibchen, die jedesmal senkrecht zur Verbindungslinie der unwirksamen Irisbilder steht. Durch einen Expositionsfehler erscheinen in einem dieser Bilder die Beugungsscheibchen zu klein.

Eine dazu polare Verlängerung zeigen die Beugungsscheibchen der Sechserbilder, die auf der rechten Seite derselben Figur dargestellt sind. Die lange Achse der Ellipse liegt im gleichen Azimut, wie das unwirksame Irisbild.

Die Viererbilder. Die gleiche zum Fünferbild polare Verlängerung treffen wir in den Beugungsscheibchen des Viererbildes Figur 5, auf Tafel II. Sie liegt im gleichen Azimut, wie das mittlere der drei benachbarten unwirksamen Irisbilder, oder anders ausgedrückt, parallel zur kurzen Diagonale der Vierergruppe. Es ist bemerkenswert, daß die Bildelemente des Viererbildes größer als die des Fünfer- und Sechserbildes sind.

Natürlich hängen Einzelheiten, die sich an den Beugungsscheibchen beobachten lassen, noch von der Gestalt der Irisbilder ab. Sie wachsen z. B. bei gleichzeitig abnehmender Lichtstärke bei kleinerer Öffnung der Iris. Dabei werden ihre Umrisse unschärfer. Ihre typische Verlängerung wird aber dadurch nicht beeinflußt, ebenso nicht, wenn wir statt kreisrunder Form eine dreieckige der Irisöffnung wählen, wie es an einem Nebenbild der gleichen Figur erläutert ist.

Zusammenfassung. Die vorstehende Prüfung hat uns an der Hand eines einfachen Beispiels mit den verwickelten Verhältnissen

bekannt gemacht, die bei der mikroskopischen Bilderzeugung bereits auftreten, wenn wir uns auf die Untersuchung der kohärenten Teile der Öffnungsbildes beschränken.

Doch gibt sie eine schwache Vorstellung von der schier unerschöpflichen Fülle der Formen, unter denen die ultramikroskopischen Bildelemente auch in flächenhaften Objekten in die Erscheinung treten können, wenn wir auch die Veränderungen in unsere Prüfung einbeziehen würden, die die Variation anderer Eigenschaften der Beugungsbüschel, der Intensität, Phasenverzögerung, Polarisation, der Beeinflußbarkeit durch das Material des Objektes u. a. m. zu verursachen vermögen und die wir absichtlich in unserer Betrachtung ausschieden.

In besonderer Gestalt trat uns die den Mikroskopiker in erster Linie interessierende Frage nach der Beeinflussung des Auflösungsvermögens entgegen. Wir erkannten den Einfluß des falschen Lichtes und seine Vermeidung und sahen die allerersten Stadien der Entwicklung der ultramikroskopischen Bildelemente, die sich erst bei sehr hoher Gruppenzahl der kohärenten Öffnungsteile dem Idealbild der getreuen Abbildung asymptotisch zu nähern vermag. In einfacher Gestalt fanden wir die Bedingung für das erste Auftreten einer sogenannten Abbildung, die aber nur deshalb die durchaus bekannte Form beibehielt, weil wir uns auf die Fälle der Hellfeldbeleuchtung bisher beschränkten.

Es ergeben sich aber merkwürdige Ergänzungen zu den bekannten Regeln über das Auflösungsvermögen, wenn wir diese Beschränkung nunmehr fallen lassen und uns der Untersuchung des Einflusses der über die Apertur des Objektives hinaus gesteigerten Beleuchtung, der schiefen Dunkelfeldbeleuchtung, im folgenden Abschnitt zuwenden.

II. Über das Auflösungsvermögen bei Dunkelfeldbeleuchtung von Strichgittern.

Vergleich mit der Hellfeldbeleuchtung. Bekanntlich entwickeln die Mikroskopobjektive ihr höchstes Auflösungsvermögen, wenn die Lichtstrahlen unter äußerster Schiefe durch die Randzone der Linsen treten. Dann können bei den feinsten, noch auflösbaren periodischen Strukturen abgebeugte Lichtstrahlen gegenüberliegende Stellen der Randzone passieren, wobei der Winkel zwischen den in das Objektiv tretenden unabgebeugten und abgebeugten Lichtstrahlen den größten Wert erreicht, der sich verwirklichen läßt.

Bei Dunkelfeldbeleuchtung entfällt die Mitwirkung des unabgebeugten Anteils der beleuchtenden Strahlen an der Bilderzeugung. Dafür treten die nächsten Beugungsbüschel ein, die von der periodischen Struktur entsandt werden. Es ist aber von vornherein klar, daß jenes Maximum auch von den in das Objektiv eintretenden abgebeugten Lichtstrahlen nicht wird überschritten werden können. Zwar kann an sich der Winkel zwischen zwei vom Objekt ausgehenden benachbarten Beugungsbüscheln größer ausfallen. Dann kann aber nur eins von ihnen in das Objektiv eindringen, wobei nach den Grundregeln der Abbeschen Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung eine Abbildung nicht mehr zustande kommt.

Wir ziehen hieraus den Schluß, daß für ein gegebenes Objektiv bei gegebener Wellenlänge des beleuchtenden Lichtes das Auflösungsvermögen im Dunkelfeld niemals größer als das bei äußerst schiefer Hellfeldbeleuchtung erreichbare sein kann.

Mit dieser negativen Aussage ist nun das in der Überschrift zu diesem Abschnitt angegebene Thema durchaus nicht erledigt. Wir werden den Nachweis erbringen, daß nur in Ausnahmefällen bei Dunkelfeldbeleuchtung das volle Auflösungsvermögen der Objektive erreicht wird und daß in der Regel eine erhebliche Verminderung des Auflösungsvermögens vorhanden ist. Wir werden zweitens mit merkwürdigen Unstetigkeiten im Auflösungsvermögen bekannt werden, die lediglich der Dunkelfeldbeleuchtung eigentümlich sind.

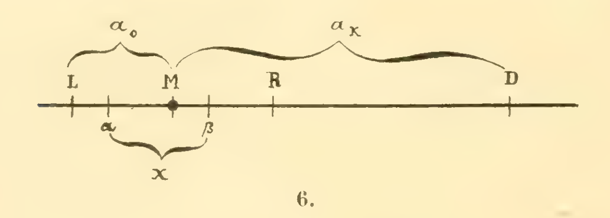
Strichgitter. Wir wollen im folgenden nur solche regelmäßigen periodischen Strukturen betrachten, die aus geraden Strichen mit gleichem Abstand bestehen, also sogenannte Gitter. Wir sehen dabei von den Eigenschaften des Materials ab und nehmen fernerhin an, daß Phasenverzögerungen durch das Gitter nicht eintreten. Für die allgemeine Frage der Auflösbarkeit ist diese Einschränkung nicht von Belang und auch nicht die weitere, daß wir nur einseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung annehmen, deren Azimut senkrecht zu den Gitterstrichen liegt. Wir nehmen ferner wieder an, daß die Ebene der Gitterstriche zur Mikroskopachse senkrecht liegt und daß mit einfarbigem Licht von der Wellenlänge λ beleuchtet werde.

Unter diesen Umständen werden von dem Gitter vereinzelte abgebeugte Lichtbüschel ausgehen, die wir zur Unterscheidung mit Ordnungszahlen versehen, derart, daß wir den unabgebeugten Teil des beleuchtenden Büschels mit dem Index 0 kennzeichnen und die von ihm aus nach der Seite des Objektives zu liegenden abgebeugten Strahlenbüschel der Reihe nach mit 1, 2, 3 usw. beziffern. Ein

Teil dieser Beugungsbüschel wird in der hinteren Brennebene des Objektives oder in deren Nähe reelle Bilder der Eintrittsöffnung entwerfen, die in einer zu den Gitterstrichen senkrecht verlaufenden geraden Linie liegen und gleiche Abstände voneinander haben.

Wenn wir uns der Grenze des Auflösungsvermögens des Objektives nähern, werden nur noch zwei von diesen in der hinteren Brennebene erscheinen, deren Ordnungszahl wir aus der folgenden Betrachtung leicht bestimmen können.

Bestimmung der Ordnungszahlen der Beugungsbüschel. Zu diesem Zweck tragen wir wie in Figur 6 auf einer geraden Linie in beliebiger Einheit eine Strecke $\overline{MD}$ ab, welche die numerische Apertur der Dunkelfeldbeleuchtung a_k mißt. Dabei stelle der Punkt M die Mitte der Objektivöffnung in der hinteren Brennebene vor. Denken wir uns letztere über den Blendenrand nach außen genügend erweitert,



6.

so würde in ihr die Spur des beleuchtenden Lichtbüschels bei D liegen. Ferner tragen wir von M aus nach rechts hin bis R und nach links hin bis L je die numerische Apertur des Objektives a_o ab. Die Indizes k und o sollen daran erinnern, daß es sich um die wirksamen Aperturen von Kondensor und Objektiv handelt. Damit nun ein gegebenes Gitter aufgelöst wird, ist erforderlich, daß innerhalb der Strecke LR mindestens zwei Beugungsbüschel entfallen. Von diesen bezeichnen wir mit der Ordnungszahl $n-1$ dasjenige, welches bei β, also näher an D, und mit n das andere, welches bei α, also entfernter von D liegt.

Bezeichnen wir weiter den Abstand $\overline{\alpha\beta}$ mit x, so muß nach den Regeln der Beugungstheorie die Strecke

$$\overline{\alpha D} = n x$$

und die Strecke

$$\overline{\beta D} = (n-1) x$$

sein. Nur dann werden die Punkte α und β innerhalb der durch

die Strecke $\overline{LR}$ vorgestellten Objektivöffnung fallen, wenn die Strecke

$$\alpha D < \overline{LD}$$

und die Strecke

$$\beta D \geq \overline{RD}$$

ist. Setzen wir fest, daß wir alle Strecken in ihrem absoluten Betrage rechnen wollen, so gilt

$$\overline{RD} = a_k - a_0$$

und

$$\overline{LD} = a_k + a_0.$$

Demnach erhalten wir schließlich die beiden Ungleichungen

$$1) \qquad n x > a_k + a_0, \quad (n-1)\, x \geq a_k - a_0,$$

die wir in die eine Form

$$2) \qquad \frac{a_k - a_0}{n-1} \geq x > \frac{a_k + a_0}{n}$$

zusammenfassen können, der wir auch die Gestalt

$$3) \qquad n\,(a_k - a_0) \leq (n-1)\,(a_k + a_0)$$

geben können, aus welcher eine leichte Umstellung

$$4) \qquad a_k \geq (2\,n - 1)\, a_0$$

ergibt.

Wir wollen nun stets für n die kleinste ganze Zahl wählen, die diese Ungleichung erfüllt. Alsdann muß diese durch eine um Eins verminderte Zahl nicht mehr erfüllt sein. Wir können demnach die Apertur der Beleuchtung in die Grenzen

$$5) \qquad (2\,n - 3)\, a_0 \leq a_k < (2\,n - 1)\, a_0$$

einschließen, woraus sich die Ordnungszahl n des Beugungsbüschels bestimmt, das bei gegebener Apertur der Beleuchtung a_k und gegebener Apertur des Objektives a_0 zusammen mit dem $n-1^{\text{ten}}$ Beugungsbüschel die Dunkelfeldabbildung noch vermitteln kann.

Bedingungen für volles Auflösungsvermögen. Für den Fall, daß die beiden zusammenwirkenden Beugungsbüschel die gegenüberliegenden Ränder des Objektives gerade noch passieren, wir also das geometrisch höchst mögliche Auflösungsvermögen des Objektives ausnutzen, fällt in Figur 6 der Punkt α mit L und der Punkt β mit R zusammen und die obigen Ungleichungen werden zu Gleichungen, die uns gestatten, den folgenden Satz auszusprechen:

Nur dann wird im Dunkelfeld das volle Auflösungsvermögen der Objektive erreicht, das sie bei äußerst schiefer Hellfeldbeleuchtung besitzen, wenn die numerische Apertur der Beleuchtung ein ganzzahliges Vielfaches der numerischen Apertur des Objektives ist. Das Bild der feinsten hiermit noch auflösbaren periodischen Struktur wird durch das Zusammenwirken des n^{ten} mit dem $(n - 1)^{\text{ten}}$ Beugungsbüschel erzeugt, wobei sich die Ordnungszahl n aus der Gleichung

$$6) \qquad a_k = (2\,n - 1)\,a_0$$

bestimmt. Da ferner im Dunkelfeld $n - 1$ nicht kleiner als Eins sein kann, muß n mindestens gleich Zwei sein. Das gibt folgende Ergänzung zu obigem Satz, die für sich allein schon früher von Cross (4) angegeben ist. Es muß die numerische Apertur der Beleuchtung mindestens dreimal so groß wie die Apertur des Objektives sein, wenn dessen Auflösungsvermögen auch im Dunkelfeld noch voll ausgenutzt werden soll.

Wenn wir die Dunkelfeldbeleuchtung z. B. mit dem Paraboloidkondensor verwirklichen, dessen wirksame numerische Apertur etwa zwischen 1·05 und 1·33 liegen möge, so werden wir bei den meisten Objektiven, deren Apertur den Wert 1·33 : 3 = 0·44 nicht übersteigt, ihr volles Auflösungsvermögen auch im Dunkelfeld ausnützen können. Denn wir können im allgemeinen ein ganzzahliges Vielfaches solcher Aperturen angeben, das in dem Aperturintervall des Paraboloidkondensors liegt.

Aber nicht bei allen Aperturen, die unter 0·44 liegen, ist das der Fall. Man kann zunächst durch Division der beiden Grenzaperturen des Paraboloidkondensors durch $2\,n - 1$ die Aperturenbereiche von Mikroskopobjektiven angeben, die für dieselbe Ordnungszahl n eine volle Ausnutzung des Auflösungsvermögens auch bei Dunkelfeldbeleuchtung mit dem Paraboloidkondensor geben, wie aus folgender Tabelle näher ersichtlich ist:

a_0	n	$n-1$
0·081—0·102	7	6
0·095—0·121	6	5
0·116—0·148	5	4
0·150—0·190	4	3
0·210—0·266	3	2
0·350—0·443	2	1

Aperturbereiche, die auch im Dunkelfeld bei Verwendung des Paraboloidkondensors voll ausgenutzt werden können.

Aus der Tabelle entnehmen wir z. B., daß Objektive, deren Aperturen in dem Intervall 0·081—0·102 liegen, ihr volles Auflösungsvermögen entwickeln können, wobei die Abbildung der feinsten von ihnen noch auflösbaren Strukturen durch das Zusammenwirken des 7ten und des 6ten Beugungsbüschels zustande kommt.

Wir entnehmen ferner der Tabelle die niederste Ordnungsziffer $n-1$ der Beugungsbüschel, die in dem betreffenden Aperturintervall bei der Bilderzeugung von regelmäßigen periodischen Strukturen mit zur Geltung kommen.

Die Tabelle macht uns des weiteren auf die Merkwürdigkeit aufmerksam, daß wir drei Lücken in den Aperturbereichen haben, in denen eine volle Ausnützung der Objektivaperturen nicht zustande kommen kann. Diese Lücken liegen in den Intervallen von 0·148 bis 0·150, ferner von 0·190 bis 0·210 und schließlich von 0·266 bis 0·350. In diesen Intervallen kann zwar das $n-1$^te^ Beugungsbüschel eintreten, nicht aber mehr das n^te^, trotz des relativ breiten Bereiches von Aperturen, die uns die Dunkelfeldbeleuchtung mit dem Paraboloidkondensor zur Verfügung stellt.

Diese in die Lücken fallenden Aperturbereiche teilen die Eigenschaft aller der Objektive, deren Apertur größer als 0·443 ist, die im Dunkelfeld ihr volles Auflösungsvermögen nicht entwickeln können.

Beschränkung des Auflösungsvermögens. Über das Maß dieser Beschränkung unterrichten uns die folgenden Betrachtungen. Wir nehmen an, daß die Dunkelfeldbeleuchtung unter der Apertur a_k an der einen Seite des Objektives vorbeigehe, während das n^te^ Beugungsbüschel auf der anderen Seite der Mikroskopachse in das Objektiv eindringe, aber so, daß es den Rand des Objektives berührt. Dann wird

$$7) \qquad n x = a_k + a_0,$$

also der größtmögliche Abstand zweier Beugungsbüschel, die noch in das Objektiv eindringen sollen

$$8) \qquad x = \frac{a_k + a_0}{n}.$$

Bei schiefster Hellfeldbeleuchtung würden wir dafür den doppelten Wert der Apertur des Objektives, also $2 a_0$ erhalten. Denken wir uns jetzt ein anderes Objektiv von der Apertur

$$9) \qquad A = \frac{a_k + a_0}{2n},$$

so würden wir bei diesem als Maximalabstand der Beugungsbüschel bei schiefer Hellfeldbeleuchtung den Wert

$$\frac{a_k + a_0}{n}$$

erhalten. Wir können daraus den folgenden Satz ableiten:

Bei Dunkelfeldbeleuchtung von der Apertur a_k ist für ein gegebenes Objektiv von der Apertur a_0 das Auflösungsvermögen gleich dem Auflösungsvermögen bei schiefer Hellfeldbeleuchtung eines anderen Objektives, dessen Apertur

$$A = \frac{a_k + a_0}{2n}$$

ist, wo sich n aus der Ungleichung

$$(2n - 3)\, a_0 < a_k < (2n - 1)\, a_0$$

bestimmt.

Um den Betrag der Differenz zwischen a_0 und A wird also das Auflösungsvermögen im Dunkelfeld erniedrigt. Diese Differenz berechnet sich leicht zu

$$10) \qquad \triangle = a_0 - A = \frac{(2n - 1)\, a_0 - a_k}{2n}.$$

Aus der Gleichung 10) ersehen wir zunächst die uns schon bekannte Tatsache, daß $\triangle = 0$ wird, wenn $a_k = (2n - 1)\, a_0$ ist. In den anderen Fällen wird die Verminderung des Auflösungsvermögens um so geringer, je höher die geringste Ordnungszahl $n - 1$ des an der Bilderzeugung mitwirkenden Beugungsbüschels ist. Da nun n mit abnehmender Apertur wächst, können wir auch sagen, daß die schwäch-

sten Objektive die geringste und die stärksten Objektive die größte Verminderung des Auflösungsvermögens zeigen müssen.

Der in der Praxis häufig vorkommende Fall der Benutzung eines Paraboloidkondensors mit Objektiven, deren wirksame Apertur auf etwa 0·85 abgeblendet ist, hat demnach eine Verminderung um

$$\frac{(2n-1)\,0{\cdot}85 - 1{\cdot}33}{2n},$$

oder unter Berücksichtigung des sich aus der Ungleichung 5) für n ergebenden Wertes von Zwei um 0·3 zur Folge. Mit anderen Worten: Ein Objektiv von 0·85 Apertur löst bei Dunkelfeldbeleuchtung mit dem Paraboloidkondensor nicht mehr auf, als ein Objektiv von 0·55 Apertur bei schiefer Hellfeldbeleuchtung.

Da man stärkere Objektive bei schiefer Dunkelfeldbeleuchtung im allgemeinen nicht mit Vorteil benutzt, ergibt sich das Resultat, daß die Dunkelfeldbeleuchtung für die Auflösung feinster periodischer Strukturen der Hellfeldbeleuchtung erheblich nachsteht. Jene findet deshalb ihre praktische Bedeutung nur in Fällen, wo die Objektelemente entweder infolge zu geringer Brechungsdifferenzen oder wegen ultramikroskopischer Dimensionen so lichtschwache Beugungsbüschel entsenden, daß sie im Hellfeld durch Überstrahlung überhaupt kein oder kein genügend kontrastreiches Bild zustande kommen lassen.

Allseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung. Wir haben bisher nur einseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung unseren Betrachtungen zugrunde gelegt. Ein Paraboloidkondensor liefert jedoch allseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung. Es erhebt sich daher die Frage, wie sich diejenigen Beugungsbüschel verhalten, die von verschiedenen Azimuten der Beleuchtung erzeugt werden. Eine einfache geometrische Überlegung wird uns da zeigen, daß diese seitlichen Azimute keine Verbesserung des Auflösungsvermögens ergeben können. Zum leichteren Verständnis bedienen wir uns hierzu der Figur 7, in welcher der mit dem Radius

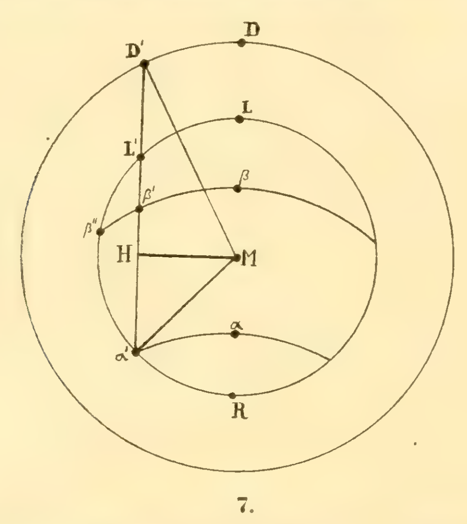
$$\overline{\alpha' M} = a_0$$

um den Mittelpunkt M gezogene Kreis die hintere Brennebene des Objektives von der Apertur a_0 darstellt. Der äußere Kreis vom Radius

$$\overline{D' M} = a_k$$

stellt die Stellen vor, wo die Strahlen der allseitig schiefen Dunkelfeldbeleuchtung von der Apertur a_k die erweitert gedachte hintere

Brennebene treffen würden. Aus dem zum Punkte D gehörigen Strahl möge die Beugung an dem Gitter, dessen Gitterstriche rechtwinklig zum Azimut von D vorausgesetzt seien, Büschel erzeugen, von denen die Spuren β und α innerhalb der Objektivöffnung erscheinen. Dabei ist bekanntlich der Abstand $\beta\alpha = \beta D$. Da zwei Büschel bei der Abbildung wirksam werden können, wird das Gitter abgebildet. Von dem seitlichen Strahl D' werden die Beugungsbüschel β' und α' abgespalten, wobei $\alpha'\beta' = \beta' D' = \beta D$ ist. Daraus erkennen wir, daß die allseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung zwei in die Objektivöffnung



7.

Beugungskreise im Öffnungsbilde bei allseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung von Strichgittern.

fallende Beugungskreise $\beta'' \beta' \beta$ und $\alpha' \alpha$ erzeugt, die mit dem äußeren Kreis gleich, aber gegen ihn verschoben sind. Ihre zugeordneten Punktepaare, wie α und β oder α' und β' erzeugen dabei die gleichen Bilder des Gitters, weil sie kohärent sind. Die dem äußeren Bogen $\beta'' \beta'$ zugehörenden Punkte des zweiten Kreises fallen außerhalb der Objektivöffnung. Durch jene allein kann aber kein Bild erzeugt werden. Sie wirken also wie falsches Licht, das man in diesem Fall besser abblendet, indem man von der einen Seite her den Kondensor abblendet, so daß nur der Bogen $D'D$ zur Beleuchtung wirksam wird, und ebensoviel von der anderen Seite her abblendet. Man würde also zweckmäßig einen Schlitz mit der Längsrichtung senkrecht zu den Gitterstrichen unter dem Kondensor ein-

legen, dessen halbe Breite gleich HM ist. Bei bekanntem Abstand d der Gitterstriche kann man diese Länge HM leicht aus dem Dreieck $D'Ma'$ ermitteln, wenn man beachtet, daß die Länge

$$Da = \overline{D'a'} = \frac{2\lambda}{d}$$

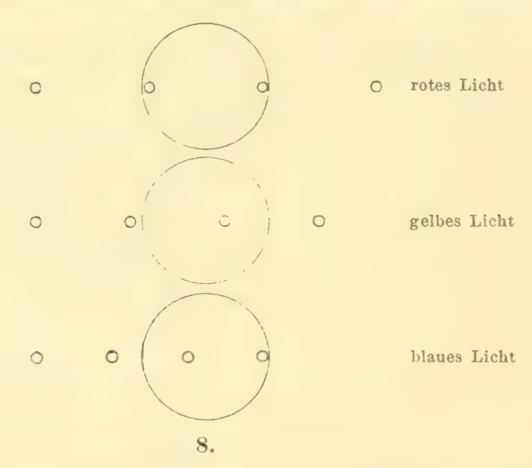
ist, daß ferner $D'M = a_k$ und $Ma' = a_0$ ist. $\overline{HM}$ ist also die Höhe eines Dreiecks, dessen drei Seiten bekannt sind.

Wir sehen aber weiter, daß für die Möglichkeit des Auftretens zweier kohärenten Beugungsbüschel bei allseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung für die in schiefem Azimut liegenden Strahlen wie D' nur die Länge der Sehne $L'a'$ maßgebend ist, die natürlich kleiner ist als der Durchmesser LR der Objektivöffnung, auf welchen die bei senkrechtem Azimut der Beleuchtung aus dem beleuchtenden Strahl D abgespalteten Beugungsbüschel β und α fallen. Daraus erkennen wir sofort, daß die seitlichen Azimute nur noch *geringeres* Auflösungsvermögen zu liefern vermögen. Wir können also unsere unter der Voraussetzung einseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung gewonnenen Resultate ohne weiteres auch bei allseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung anwenden. Diese gibt hellere Bilder, wobei aber nur der Bogen von der doppelten Länge von DD' für die Bilderzeugung wirksam werden kann.

Schließlich haben wir noch eine Merkwürdigkeit zu besprechen, die dem praktischen Mikroskopiker bei der Anwendung der Dunkelfeldbeleuchtung auf periodische Strukturen passieren kann, für welche im Hellfeld keine Möglichkeit ist. Wenn wir bei schiefer Hellfeldbeleuchtung bei gegebener Wellenlänge des Lichtes eine beliebige periodische Struktur haben auflösen können, so wissen wir, daß dies bei kurzwelligem Licht erst recht der Fall sein wird, denn je kürzer die Wellenlänge ist, um so kleiner ist der Abstand benachbarter Beugungsbüschel, also um so eher die Möglichkeit gegeben, daß sie noch in das Objektiv eindringen können. Bei schiefer Dunkelfeldbeleuchtung kann aber der sonderbare Fall eintreten, daß wir z. B. bei rotem Licht eine Struktur auflösen können, nicht mehr aber bei gelbem oder grünem Licht.

Unstetigkeiten im Auflösungsvermögen. Es ist leicht, sich an der Hand des bisher Auseinandergesetzten hierüber klar zu werden. Wir betrachten in Figur 8 obere Reihe den großen Kreis, der die hintere Brennebene des Objektives darstellen soll. In der über die Blendenöffnung des Objektives erweitert gedachten Ebene

liege links die Spur der beleuchtenden Strahlen, während von den bei rotem Licht abgebeugten Büscheln zwei in die Objektivöffnung fallen und das dritte rechts außerhalb liegt. Die zwei Büschel, die somit durch das Objektiv hindurchtreten können, reichen zur Abbildung des Gitters mit richtigem Gitterabstand aus. Bei Verwendung von kurzwelligerem Licht rücken aber bei gleichem Objekt und festgehaltener Dunkelfeldbeleuchtung die Beugungsbüschel im Verhältnis der Verkürzung der Wellenlänge näher aneinander. Etwa für gelbes Licht ist dies in der mittleren Reihe von Figur 8 dargestellt. Wir bemerken, daß das erste Beugungsbüschel hierbei links aus dem Objektivkreis herausfällt, der somit nur noch ein Beugungsbüschel,



8.

Unstetigkeiten im Auflösungsvermögen bei Dunkelfeldbeleuchtung.

das zweite, enthält, das aber für sich allein keine Bilderzeugung vermitteln kann. Erst bei Verwendung von noch kurzwelligerem Licht, wie es etwa für blau in der unteren Reihe dargestellt ist, kann infolge der noch stärkeren Verkürzung der Abstände der Beugungsbüschel das dritte vom rechten Rande her in das Objektiv eindringen, so daß nunmehr durch sein Zusammenwirken mit dem zweiten Beugungsbüschel wieder eine Abbildung des Gitters zustande kommen kann.

Ganz entsprechende Eigentümlichkeiten treten auf, wenn wir, statt bei konstantem Gitterabstand die Wellenlänge zu verändern, umgekehrt bei konstanter Wellenlänge den Gitterabstand vergrößern. Denn je größer derselbe wird, um so mehr rücken die Beugungsbüschel in der hinteren Brennebene zusammen. Der oberen Reihe von Figur 8 entspricht dann das engste Gitter, das von dem Ob-

jektiv noch gelöst wird, das mittlere Gitter bleibt ungelöst und erst das gröbere, der unteren Reihe entsprechend, wird wieder gelöst.

In Figur 9, Tafel III, ist dieser Fall durch mikrophotographische Aufnahmen der sogenannten Grayson-Platte veranschaulicht. Diese Platte enthält 12 Gitter verschiedener Feinheit als mikroskopische Testobjekte für das Auflösungsvermögen. Während die vierte und sechste Gruppe mit 20000 bzw. 30000 Strichen pro Zoll bei gelbem Licht und Dunkelfeldbeleuchtung mit dem Paraboloidkondensor unter Benutzung eines Objektives von der Apertur 0·49 leicht gelöst werden, wird die dazwischenliegende fünfte Gruppe mit 25000 Strichen pro Zoll im Dunkelfeld, abgesehen von Stellen mit ungenauer Teilung, nicht gelöst. Diese Unstetigkeit des Auflösungsvermögens tritt im Hellfeld nicht ein, wie die mit dem gleichen Objektiv gemachten Aufnahmen, die zum Vergleich daneben gesetzt sind, zeigen. Für die Wechselbeleuchtung diente eine neue Form des Paraboloidkondensors, der Helldunkelfeldkondensor, über den der Abschnitt III die nötigen Angaben enthält.

Wir können diese besondere Unstetigkeit leicht auch rechnerisch begründen. Bezeichnen wir wieder mit x den Abstand zweier aufeinander folgender Beugungsbüschel in der hinteren Brennebene, so lautet die Bedingung dafür, daß *das erste und zweite Beugungsbüschel* eine Auflösung vermitteln:

$$x > a_k - a_0,$$

$$2x < a_0 + a_k,$$

oder

$$\frac{a_0 + a_k}{2} > x > a_k - a_0,$$

was natürlich nur vorkommt, wo

$$\frac{a_0 + a_k}{2} > a_k - a_0$$

oder

$$3a_0 > a_k$$

ist.

Gitter, bei denen diese Bedingungen erfüllt sind, werden gelöst. Dagegen werden die Gitter nicht gelöst, wo *nur das zweite Beugungsbüschel* in die Objektivöffnung eintreten kann. Um diesen Fall rechnerisch zu erfassen, drücken wir durch Ungleichungen die Be-

dingungen dafür aus, daß das erste und dritte Beugungsbüschel diesseits und jenseits der Objektivöffnung fällt. Diese lauten:

$$x < a_k - a_0$$

$$3x > a_k + a_0$$

oder

$$a_k - a_0 > x > \frac{a_k + a_0}{3},$$

was nur vorkommen kann, wo

$$a_k - a_0 > \frac{a_k + a_0}{3},$$

oder nach leichter Umstellung

$$a_k > 2a_0$$

ist.

Die beiden oben betrachteten Fälle treten also auf, wo

$$3a_0 > a_k > 2a_0$$

ist, wo also die Apertur der Dunkelfeldbeleuchtung zwischen dem doppelten und dreifachen Betrag der Objektivapertur liegt.

In diesem Fall können demnach vier verschiedene Möglichkeiten eintreten.

I. Nur das erste Beugungsbüschel tritt in das Objektiv, das Gitter kann also nicht gelöst werden. Dann ist

$$2x > a_k + a_0$$

oder

$$x > \frac{a_k + a_0}{2}.$$

II. Das erste und das zweite Beugungsbüschel treten in das Objektiv, das Gitter kann also aufgelöst werden:

$$\frac{a_k + a_0}{2} > x > a_k - a_0.$$

III. Nur das zweite Beugungsbüschel kann in das Objektiv eintreten, das Gitter wird daher nicht gelöst:

$$a_k - a_0 > x > \frac{a_k + a_0}{3}.$$

IV. Mindestens das zweite und dritte Beugungsbüschel kann in das Objektiv eintreten, das Gitter wird also wieder gelöst:

$$\frac{a_k + a_0}{3} \geq x,$$

wobei jedesmal $x = \lambda/d$, unter d den Abstand benachbarter Gitterstriche verstanden, zu setzen ist.

Beachten wir, daß der halbe Wert von x eine Objektivapertur ergibt, die im schiefen Hellfeld zur Auflösung eines dem Werte von x entsprechenden Gitters ergibt, so können wir die im vorstehenden gekennzeichnete merkwürdige Lücke, die das Auflösungsvermögen bei Dunkelfeldbeleuchtung zeigen kann, und auf die schon Conrady (5), allerdings ohne schärfere Umgrenzung, wie hier geschehen, aufmerksam machte, folgendermaßen beschreiben:

Liegt die Apertur der Dunkelfeldbeleuchtung zwischen dem doppelten und dem dreifachen Wert der Objektivapertur, so werden alle diejenigen periodischen Strukturen, die bei schiefer Hellfeldbeleuchtung eine zwischen den Werten

$$\frac{a_k + a_0}{6} \text{ und } \frac{a_k - a^0}{2}$$

liegende Objektivapertur zur Auflösung erfordern, nicht mehr abgebildet, wohl aber die *feineren* Strukturen, die im Hellfeld eine zwischen

$$\frac{a_k - a_0}{2} \text{ und } \frac{a_k + a_0}{4}$$

liegende Objektivapertur zur Auflösung erfordern würden. —

Schließlich können wir noch leicht die Ungleichungen angeben, die für den allgemeinen Fall gelten, daß wir die Lücke im Auflösungsvermögen suchen, die eintritt, wenn statt des Zusammenwirkens von n^{tem} und $(n+1)^{\text{tem}}$ Beugungsbüschel nur das Eindringen des $(n+1)^{\text{ten}}$ Beugungsbüschels in die Objektivöffnung stattfindet.

Es treten jedenfalls die Beugungsbüschel von der Ordnungszahl n und $n+1$ in die Objektivöffnung und ermöglichen so eine Abbildung des Gitters, wenn

$$n\,x > a_k - a_0,$$

$$(n+1)\,x \leq a_k + a_0$$

oder

$$\frac{a_k + a_0}{n+1} \geq x \geq \frac{a_k - a_0}{n}$$

ist, was nur vorkommen kann, wo

$$n x \leqq a_k - a_0,$$

$$(n + 2)\, x > a_k + a_0,$$

oder nach leichter Umrechnung

$$\frac{a_k - a_0}{n} \geqq x \geqq \frac{a_k + a_0}{n + 2}$$

ist.

Dagegen kann nur das $(n + 1)^{\text{te}}$ Beugungsbüschel allein eintreten, das Gitter demnach nicht abgebildet werden, wo

$$n x < a_k - a_0,$$

$$(n + 2)\, x > a_k + a_0,$$

also

$$\frac{a_k - a_0}{n} > x > \frac{a_k + a_0}{n + 2}$$

ist. Dies kann nur vorkommen, wo

$$(n + 2)\,(a_k - a_0) > n\,(a_k + a_0)$$

ist, oder nach einfacher Umstellung der Glieder dieser Ungleichung

$$a_k > (n + 1)\, a_0$$

ist.

Wir können danach die Unstetigkeit im Auflösungsvermögen, die für Dunkelfeldbeleuchtung kennzeichnend ist, durch folgenden allgemeinen Satz beschreiben:

Liegt die numerische Apertur der Beleuchtung zwischen dem $(n + 1)$-fachen und dem $(2n + 1)$-fachen Wert der Objektivapertur, so werden alle diejenigen Gitter nicht gelöst, welche zur Auflösung bei schiefer Hellfeldbeleuchtung Objektive verlangen, deren Aperturen zwischen $\frac{a_k - a_0}{n}$ und $\frac{a_k + a_0}{n + 2}$ liegen. Die Auflösung ist deshalb unmöglich, weil nur das Beugungsbüschel mit der Ordnungszahl $n + 1$ in das Objektiv einzudringen vermag. Trotzdem werden die feineren Gitter gelöst, die sich bei schiefer Hellfeldbeleuchtung mit Objektiven lösen lassen, deren Aperturen zwischen $\frac{a_k - a_0}{n}$ und $\frac{a_k - a_0}{n + 1}$ liegen, weil zwei Beugungsbüschel von der Ordnungszahl n und $n + 1$ in das Objektiv einzudringen vermögen. Ebenso werden alle gröberen Gitter gelöst, die bei schiefer Hellfeldbeleuchtung zur Auflösung Objektive verlangen würden, deren Apertur kleiner als $\frac{a_k + a_0}{n + 2}$ ist.

Aus diesem Satz lassen sich mehrere wichtige Folgerungen ziehen.

Setzen wir z. B. $n = 1$, so erhalten wir hieraus die Ungleichungen des Sonderfalles, den wir zuerst abgeleitet hatten.

Wir können damit ferner beweisen, daß die besondere in Figur 8 dargestellte Lücke im Auflösungsvermögen unter den angegebenen Bedingungen eintreten muß. Der Paraboloidkondensor war durch eine ringfömige Blende auf das Aperturintervall 1·20—1·15, in welchem nebenbei bemerkt seine beste Strahlenvereinigung liegt, abgeblendet. Beobachtet wurde mit einem Trockensystem, das auf die Apertur 0·49 abgeblendet war. Dann ist

$$(a_k)_{\min} - a_0 = 0{\cdot}66$$
$$(a_k)_{\max} - a_0 = 0{\cdot}71$$
$$(a_k)_{\min} + a_0 = 1{\cdot}64$$
$$(a_k)_{\max} + a_0 = 1{\cdot}69,$$

und wir haben zu untersuchen, welche Beugungsbüschel bei Anwendung verschiedenfarbigen Lichtes, dessen Wellenlänge in dem Intervall

$$0{\cdot}75 > \lambda > 0{\cdot}40\,\mu$$

liegen möge, in das Objektiv einzudringen vermögen.

Damit das erste Beugungsbüschel das Objektiv durchlaufen kann, muß

$$x > a_k - a_0$$

sein, wo wieder

$$x = \lambda / d$$

zu setzen ist. Der Abstand d der Gitterstriche für den Fall der fünften Teilung auf der Grayson-Platte, die 25000 Striche pro Zoll trägt, berechnet sich zu 1·02 μ. Eine einfache Anwendung dieser Werte auf die vorstehenden Formeln ergibt die folgende Tabelle:

Wellenlängenbereich	a_k	Ordnungszahl des wirksamen Beugungsbüschels
0·75—0·72	1·20—1·15	1
0·71	1·19—1·15	1
0·70	1·18—1·15	1
0·69	1·17—1·15	1
0·68	1·16—1·15	1
0·67	1·15	1

Für alle Wellenlängen, die kürzer als 0·66 μ sind, bleibt die gegebene Dunkelfeldbeleuchtung unwirksam für das erste Beugungsbüschel.

Eine analoge Ausrechnung für das zweite Beugungsbüschel ergibt das Resultat, daß die ganze Öffnung des Kondensors für das ganze Wellenlängenbereich wirksam bleibt.

Für das dritte Beugungsbüschel ergibt eine weitere einfache Rechnung nach den entwickelten Formeln, daß für $\lambda > 0{\cdot}57\ \mu$ die ganze Öffnung unwirksam bleibt, daß für Wellenlängen zwischen 0·57 und 0·56 μ Teile der Öffnung wirken und daß für Wellenlängen unter 0·56 μ die ganz oben angegebene Öffnung des Kondensors wirksam ist.

Im Wellenlängenbereich von 0·67 bis 0·57 μ kann deshalb das Gitter nicht abgebildet werden, da nur das zweite Beugungsspektrum in das Objektiv eindringt, das aber allein zur Bilderzeugung nicht ausreicht.

Zweckmäßige Wahl der Dunkelfeldblenden. Zum Glück lassen sich durch zweckmäßige Wahl der Dunkelfeldblenden im Verhältnis zur Apertur des Objektives solche unangenehmen Lücken im Auflösungsvermögen von vornherein vermeiden.

Damit solche Lücken überhaupt möglich sind, muß die Apertur der Dunkelfeldbeleuchtung mehr als zweimal so groß wie die Apertur des Objektives sein. Sie können also nicht mehr eintreten, wenn wir uns für die Handhabung zur Richtschnur nehmen, daß die Apertur der Dunkelfeldbeleuchtung stets kleiner sein soll, als die doppelte Apertur des Objektives.

Diese Richtschnur führt uns zu einer vernünftigen Einteilung der für die ganze Reihe der Objektivaperturen notwendigen Dunkelfeldblenden.

Mit dem Paraboloidkondensor lassen sich alle Objektive, deren Apertur 0·65 und mehr beträgt, verwenden, ohne daß wir die soeben aufgestellte Bedingung verletzen. Eine Dunkelfeldblende von der Apertur 0·5 würde für Objektive von 0·3 und 0·4 Apertur genügen und eine weitere von der Apertur 0·3 für Objektive von 0·15 und 0·2 Apertur. Für noch schwächere Objektive wird gleichzeitig die Forderung nach einem entsprechend *großen Sehfeld*, das noch bei allseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung abgebildet werden kann, erhoben. Hier wird der sogenannte *Planktonkondensor*, der vom Verfasser auf Anregung des Herrn Prof. NATHANSOHN konstruiert wurde, gute Dienste leisten. Derselbe liefert ein brauchbares Dunkel-

feldsehfeld von etwa 6 mm Durchmesser, unter Aperturen, die etwa zwischen 0·3 und 0·4 liegen. Für noch geringere Aperturen der Beleuchtung würde sich die wichtigere Forderung des großen Sehfeldes nicht mehr mit einfachen Mitteln erzielen lassen.

III. Über die Wechselbeleuchtung und die Doppelbeleuchtung mit dem Helldunkelfeldkondensor.

Bei mehreren Versuchen, die zur Prüfung der erörterten Vorkommnisse angestellt werden mußten, bediente sich Verfasser, wie schon erwähnt, einer besonderen Einrichtung, die uns übrigens über ihren unmittelbaren Zweck der Wechselbeleuchtung hinaus auf das Gebiet der mikroskopischen Abbildung bei Doppelbeleuchtung führt, deren eingehende Untersuchung einer späteren Abhandlung vorbehalten sei. Wir begnügen uns hier mit einigen erläuternden Bemerkungen.

Der Helldunkelfeldkondensor. Die Einrichtung sollte zunächst dazu dienen, dem Wechsel zwischen Hellfeld- und Dunkelfeldbeleuchtung bei der Prüfung des sehr verschiedenen Auflösungsvermögens, das nach dem vorhergehenden Abschnitt durch beide Beleuchtungsarten bedingt ist, eine bequemere Hilfe zu leisten, als dies mit anderen zu diesem Zweck angegebenen Wechselkondensoren der Fall ist.

Bisher hatte man beim Wechsel vom Dunkelfeldbilde zum Hellfeldbilde stets mindestens zwei voneinander unabhängige Bewegungen vorzunehmen, nämlich das Ausschalten der Dunkelfeldblende und das Schließen der Irisblende bis auf den für die Hellfeldbeleuchtung gewünschten Betrag, so daß der Wechsel der Bildart und das Einstellen auf eine bestimmte Helligkeit verhältnismäßig viel Zeit beanspruchte. Man mußte daher oft den Übelstand in Kauf nehmen, daß nach erfolgter Umstellung das Objekt sich bereits verändert hatte oder ein bewegliches Objekt aus dem Gesichtsfelde gewandert war und dergl.

Dieser Übelstand läßt sich dadurch fast ganz beseitigen, daß man die für den Wechsel der Bildart und die Einstellung der Helligkeit erforderlichen Bewegungen mit einem einzigen Handgriffe ausführt, indem man den zur Verstellung der Irisblende angebrachten Handgriff auch zur Ein- und Ausschaltung der Dunkelfeldblende benutzt.

Die Blendenbewegung. Man kann hierbei zweckmäßig den Antrieb zum Ein- und Ausschalten der Dunkelfeldblende in solcher

Weise mit dem zur Verstellung der Irisblende dienenden Handgriffe kuppeln, daß gleichzeitig mit der Ausschaltung der Dunkelfeldblende die Irisblende ungefähr bis auf denjenigen Betrag geschlossen wird, der der Größe der Dunkelfeldblende entspricht. Man erreicht hierdurch, daß, sobald die Dunkelfeldblende herausbewegt ist, die Irisblende bereits soweit geschlossen ist, daß nur mehr die für die Hellfeldbeleuchtung brauchbaren Strahlen in den Kondensor eintreten können, und man kann unmittelbar durch das Weiterbewegen des Handgriffes die Helligkeit des Hellfeldbildes in üblicher Weise regeln.

Da ferner bei der Hellfeldbeleuchtung die Helligkeit des Bildes sehr viel größer ist, als bei der Dunkelfeldbeleuchtung und daher das Auge bei dem raschen Wechsel der Beleuchtung geblendet werden würde, empfiehlt es sich, im Strahlengang des der Hellfeldbeleuchtung dienenden Kondensorteils eine der Größe der Dunkelfeldblende entsprechende, lichtabsorbierende Scheibe fest einzubauen, deren Lichtdurchlässigkeit so gewählt ist, daß der Grund des Hellfeldbildes bei einer Stellung der Irisblende, bei der nur der zur Dunkelfeldbeleuchtung dienende Teil des Kondensors abgeblendet ist, ungefähr die gleiche Helligkeit besitzt, wie die Objekte des Dunkelfeldbildes. Die lichtabsorbierende Wirkung kann in beliebiger Weise erreicht werden, beispielsweise durch Herstellung aus Rauchglas, gefärbtem Glas, Mattglas oder durch Verbindung derartiger Mittel.

Eine solche Einrichtung ist bei allen vorkommenden Systemen von Kondensoren anwendbar, die den oben genannten Verwendungszwecken entsprechen, sowohl bei solchen, die zum Einstecken in die Kondensorschiebhülse des Mikroskopes geeignet sind, als auch bei Plattenkondensoren, die auf den Mikroskoptisch gelegt werden, und ferner bei Linsenkondensoren ebenso, wie bei den verschiedenen Arten von Spiegelkondensoren. Bei den letzteren ist der zentrale Teil des Kondensors entweder frei zu lassen oder mit einem der Größe der Dunkelfeldblende entsprechenden, ein- oder mehrgliedrigen Linsenkondensor zu versehen, wodurch nach Ausschalten der Dunkelfeldblende entweder unmittelbar oder durch Vermittlung des Linsenkondensors die Hellfeldbeleuchtung ermöglicht ist.

Bei dem nach diesen Angaben vom Zeiss-Werk unter dem Namen Helldunkelfeldkondensor in den Handel gebrachten Apparat gleicht das Äußere zunächst sehr dem bekannten Paraboloidkondensor. Bei beiden wird durch Spiegelung des Lichtes an einer paraboloidisch gekrümmten Fläche der Strahlengang für die Dunkelfeldbeleuchtung geregelt. Der Helldunkelfeldkondensor ist also in erster Linie ein

vollkommener Dunkelfeldkondensor wie der Paraboloidkondensor. Die daran angebrachte Einrichtung zur Hellfeldbeleuchtung vermittels der oben beschriebenen Vorrichtung der gekuppelten Blendenbewegung ist lediglich eine Zusatzeinrichtung zu dem Dunkelfeldkondensor. Daraus folgt, daß dieser Wechselkondensor nur vorübergehend für Hellfeldbeleuchtung beansprucht werden soll, daß er aber nicht bestimmt ist, zugleich auch einen der üblichen Hellfeldkondensoren in vollem Umfange zu ersetzen. Das kann er deshalb nicht leisten, weil seine zentrale hierfür benutzte Partie einen erheblich kleineren Durchmesser besitzt, als gewöhnliche Hellfeldkondensoren von dieser Apertur, die beiläufig etwa 0·85 beträgt, haben würden. Infolgedessen gibt die gleiche Irisverkleinerung beim Helldunkelfeldkondensor eine merklich gröbere Veränderung der Beleuchtung, als dies bei den üblichen Hellfeldkondensoren der Fall ist.

Neutrale Bilder. Es ist nun sehr bemerkenswert, daß man durch diese Art der Blendenkuppelung einen neuen Beleuchtungseffekt erhält, der besondere Erwähnung verdient und dessen eingehendere Untersuchung einer späteren Arbeit vorbehalten sei. Während beim Umschalten an anderen Wechselkondensoren eine Pause eintritt, wo die ganze Beleuchtung abgeblendet ist, wird beim Helldunkelfeldkondensor das Hellfeldbild ganz allmählich in das Dunkelfeldbild und umgekehrt übergeführt. Der Wert dieses allmählichen Überganges liegt darin, daß man hierbei bereits einzelne Elemente im Objekt als positives Dunkelfeldbild wahrnimmt, während andere noch hellfeldartig, also im negativen Bilde erscheinen. Insbesondere kann man an einzelnen Stellen das *neutrale Bild* erzeugen, bei welchem sich positive und negative Abbildung in gleicher Helligkeit überlagern. Je nach der Beugungswirkung einer Stelle, die außer von geometrischen Faktoren hauptsächlich von der Differenz im Brechungsvermögen abhängt, die sie gegen die Nachbarschaft besitzt, tritt der auffällige Umschlag in der Abbildung bei der einen oder anderen Blendenstellung ein. Man hat somit in der Erzeugung der neutralen Abbildung einen Ansatz zu einer Art von qualitativer Mikro-Refraktometrie, deren Ausarbeitung gewiß für manche Aufgaben von Erfolg sein würde.

Die Abbildungen auf Tafel III, Figur 10, sollen eine Vorstellung vom Aussehen, der Handhabung und der Wirkungsweise des Helldunkelfeldkondensors geben. Die der Blendenbewegung entsprechende Bildveränderung ist hier an der Abbildung eines ungefärbten Planktonwesens (Brachionus) erläutert. Beim Übergang von Hellfeld zum Dunkel-

feld blitzen zuerst die Zilien auf, darauf Teile des Kauapparates usw. Besonders deutlich, scheinbar reliefartig, treten beim Übergang der Beleuchtung die Muskelstränge hervor.

IV. Über die Prüfung der Aperturen mit dem Faden-Apertometer.

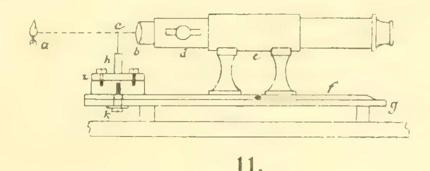
Die fundamentale Abhängigkeit der erörterten Erscheinungen von der numerischen Apertur der Beleuchtung und des Beobachtungsobjektives erwies die häufige genaue Aperturenmessung als erforderlich, deren neuartige Ausführungsweise im folgenden in Kürze angegeben sei. Die jetzt üblichen Apparate zur Messung der Apertur von Mikroskopobjektiven, wie die Apertometer von Abbe, von Cheshire usw. beruhen darauf, daß man in der hinteren Brennebene der Objektive oder in deren nächster Nähe direkt oder mit einem Hilfsmikroskop das Verschwinden von Signalen beobachtet. Diese Methode hat den Nachteil, daß man zur Erzielung genauer Messung den wirksamen Blendenrand gleichzeitig scharf mit dem Bilde des Signals einstellen muß. Nun liegen aber sehr oft die wirksamen Blenden im Inneren der Mikroskopobjektive, manchmal nahe der Frontlinse, was zur Folge hat, daß sie nicht gleichzeitig scharf mit dem Signal abgebildet werden können. In Fällen, wo der sich daraus ergebende Einstellungsunterschied, die Parallaxe, nur schwache Beträge annimmt, kann man sich mit dem von Abbe hierfür empfohlenen telezentrischen Strahlengang behelfen. In vielen Fällen ist dies jedoch nicht ausreichend, was eine erhebliche Ungenauigkeit der Messung bedingt.

Von diesem Nachteil ist die im folgenden angegebene Einrichtung des Verfassers frei, weil sie das Signal in die Objektebene des Mikroskopes verlegt, also die Beobachtung der hinteren Brennebene unnötig macht. Sie greift damit, wenn auch in anderer und vervollkommneter Weise, auf die Anordnung zurück, die schon beim ersten primitiven Apertometer von Lister (6) vorhanden war und von dem die nebenstehende Figur 11 eine Vorstellung gibt, die wir der Mikrographie von Mohl (7) entnehmen. „Man stellt ein brennendes Licht in der Richtung der Achse eines horizontal liegenden Mikroskopes einige Ellen vor seinem Objektive auf und stellt das Objektiv auf eine als Objekt dienende Nadel als Mittelpunkt soweit seitwärts, bis das von der Kerze kommende Licht nur noch die eine Hälfte des Gesichtsfeldes erleuchtet, und dreht alsdann dasselbe so weit auf die

andere Seite, bis die entgegengesetzte Hälfte des Gesichtsfeldes allein erleuchtet ist. Der Winkel, um welchen man bei dieser letzten Bewegung das Mikroskop drehte, entspricht dem Öffnungswinkel des Objektives" (a. a. O. p. 192).

Man hat hier schon ein der Messung zugrunde liegendes Kriterium, das Erscheinungen im Sehfeld und nicht in der hinteren Brennebene der Messung zugrunde legt. Natürlich ist die Messung sehr ungenau, da der Einfluß der Vignettierung durch die Größe der Lichtquelle nicht berücksichtigt wird und der Apparat die Prüfung der damals noch nicht erfundenen Immersionsobjektive nicht zuläßt.

Das folgende vom Verfasser angegebene Kriterium ist von diesen Nachteilen frei. Wenn man nämlich in der Objektebene bei einseitig schiefer Dunkelfeldbeleuchtung eine geradlinige Objektkante dreht, so wird sie genau in dem Moment unsichtbar, in dem die von der



11.

Apertometer von LISTER (1830).

Kante ausgehende abgebeugte Kegelwelle (8) durch den Blendenrand des Objektives zurückgehalten wird.

Bezeichnet man mit ζ das Komplement des Winkels, den die Richtung der Kante im Moment des Verschwindens mit der in die Tischebene des Mikroskopes projizierten Richtung der einseitig schiefen Dunkelfeldbeleuchtung bildet, so ist die gesuchte numerische Apertur des Objektives gleich der ein für allemal bekannten und festgehaltenen numerischen Apertur der Beleuchtung multipliziert mit dem Sinus des Winkels ζ.

Die Einrichtung läßt sich in Gestalt einer Platte auf jeden Mikroskoptisch legen. Auf ihr befindet sich eine drehbare Glasscheibe, welche das geradlinige Objekt, am besten einen sehr dünnen Glasfaden aus schwerstem Bleiglas trägt, der durch den Drehungsmittelpunkt der Glasscheibe läuft, in Kanadabalsam eingelegt und mit einem Deckglas bedeckt ist. Die Scheibe dreht sich gegen eine feste Skala, auf welcher die Drehungswinkel oder auch gleich die daraus berechneten numerischen Aperturen aufgraviert sind. Ein Index auf der Drehscheibe verläuft in der verlängerten Richtung des Signales.

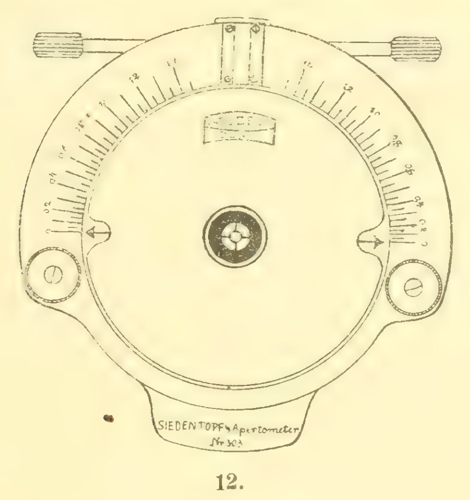
Durch ein neben der Glasscheibe rechtwinklig zum Nullpunkt der Aperturenskala fest aufgesetztes Glasstück, das mit einem schmalen Schlitz und einer passenden Beleuchtungslinse versehen ist, wird für eine wohldefinierte einseitig schiefe Dunkelfeldbeleuchtung gesorgt, die durch die Stirnfläche der Glasscheibe eintritt. Ein von außen verstellbares, durch eine Glasplatte abgeschlossenes Spiegelchen lenkt die Strahlen der Lichtquelle (am besten Nernst-Mikroskopierlampe) nach oben zum erwähnten Glasstück, das an der Vorderkante unter 45° angeschliffen und versilbert ist, so daß an dieser Spiegelfläche die Strahlen nach dem Objekt zu weiter reflektiert werden.

Eine Vorstellung von der Einrichtung gibt Figur 12. Wir sehen zwei symmetrische Teilungen, deren Benutzung die Beseitigung eines etwaigen Nullpunktsfehlers ermöglicht, der daher rühren könnte, daß der Faden nicht genügend geradlinig verläuft. Die beiden mittleren Schrauben dienen zur mikrometrischen Drehung der Glasscheibe. Der vordere Trieb ermöglicht eine bequeme Spiegelverstellung zur richtigen Einstellung der Beleuchtung. Eine obere Platte verdeckt das Glasstück, durch welches die Strahlen der Beleuchtung verlaufen. Der hintere Flansch dient zum Auflegen der Tischfedern des Mikroskopes, für welche zwei Aussparungen links und rechts Raum lassen.

Die Genauigkeit der mit diesem neuen Faden-Apertometer zu erzielenden Messungen hängt wesentlich von der zweckmäßigen Herstellung des Fadens ab. Es ist zunächst selbstverständlich, daß derselbe in einem Medium eingebettet sein muß, das einen Brechungsexponenten besitzt, der mindestens etwa 1·5 beträgt, damit man die hohen Immersionsaperturen wenigstens bis 1·4 noch messen kann. Auf noch stärkere Objektive, wie z. B. Monobromnaphthalin-Immersionen von 1·6 Apertur, braucht man nicht Rücksicht zu nehmen, da sie sich in der Praxis des Mikroskopikers nicht eingebürgert haben. Dann muß die Substanz des Fadens einen erheblich größeren Brechungsexponenten besitzen, damit die Intensität des abgebeugten Lichtes nicht zu klein wird. Oder man könnte umgekehrt die Substanz des Fadens als niedrig brechendes Medium wählen, das in einem höher brechenden einzubetten wäre. Das wäre der Fall bei in Glas gezogenen feinen Diamantstrichen, die den Vorzug besitzen würden, von vornherein die nötige Geradlinigkeit zu gewährleisten. Da die Striche aber einen Faden darstellen, der zunächst aus Luft besteht, die sich bei der Natur der Diamantstriche wohl nur sehr unvollkommen durch eine hochbrechende Flüssigkeit, wie z. B. Schwefel gelöst in Methylenjodid, verdrängen lassen würde, ganz abgesehen

davon, daß vermutlich durch allmähliche Zersetzung ein gänzlich ungeeignetes trübes Medium daraus entstehen würde, so muß man wohl von Diamantstrichen ganz absehen. Ganz ungeeignet sind z. B. Diamantstriche, die mit Graphit geschwärzt sind. Diese wirken wie ein trübes Medium, an dem die unregelmäßige Beugung an allen einzelnen Korpuskeln im Inneren die regelmäßige Kantenbeugung vollkommen überstrahlt.

Als trübes Medium scheidet deshalb auch ein Schwefelfaden aus, mit dem wir sonst die Bedingung der großen Differenz im Brechungsvermögen gegen das Einbettungsmedium ausgezeichnet verwirklichen könnten.



12.

Ganz ungeeignet sind ferner die Kanten von Rasierklingen, die sich schon bei der Untersuchung mit mittleren Mikroskopsystemen als so unregelmäßig zackig herausstellen, daß von einer regelmäßigen Kegelwelle abgebeugten Lichtes bei der mikroskopischen Prüfung nicht mehr die Rede sein kann.

Dasselbe gilt von Ätzstrichen im Glas, die außer durch zackige Begrenzung noch als trübe Medien stören.

Ein anderer Versuch mit einem Faden aus tiefschwarzem Glas schlug vollkommen fehl, da die Einbettung in dem annähernd gleichbrechenden Kandabalsam den Faden unsichtbar machte. Das gibt nebenbei Veranlassung zu der Vermutung, daß wenn keine Differenz im Brechungsvermögen vorhanden ist, auch eine noch so große Differenz im Absorptionsvermögen keine Beugung von merklichem Betrage

mehr veranlassen kann, oder was dasselbe sagt, es muß unter allen denkbaren Umständen die Intensitätsformel für das abgebeugte Licht die Differenz der Brechungsexponenten der beiden angrenzenden Medien als Faktor besitzen.

Auch die Versuche mit metallisch reflektierenden Körpern schlugen fehl. Ein dünner Eisendraht erwies sich als zu dick, außerdem wirkte er als sehr trübes Medium, wodurch die sonst helle Kantenbeugung störend überstrahlt wurde. Ähnlich erging es mit Glasfäden, die versilbert wurden. *Auch die Versilberung* wirkte als trübes Medium, selbst wenn sehr langsam und dick versilbert wurde. Weniger trüb wirkt Vergoldung, aber immer noch genug, um für genauere Messung das Ergebnis unsicher zu machen. Nahm man statt des sich schlechter versilbern lassenden Flintglases einen Faden aus Prismencrown, so zeigte sich ferner, daß es wegen des kleineren Erweichungsintervalls sehr viel schwerer war, gerade Fäden zu ziehen. Die beim schnellen Ziehen auftretenden Schwingungen verursachten periodische Verdickungen auf dem Faden, die ihm ein knotiges Aussehen geben.

Die besten Ergebnisse wurden mit Fäden aus schwerstem Bleiglas erzielt. Die Fadenbilder erschienen als doppelte Interferenzstreifen wegen der doppelten Kantenbeugung und wegen der genügenden Differenz im Brechungsvermögen gegen das Einbettungsmedium ausreichend hell, um bei Beleuchtung mit Nernst-Licht eine zuverlässige Messung zu ermöglichen.

Die Fäden, deren Dicke 5 bis 10 μ betrug, wurden in einer Spannvorrichtung befestigt und mittels einer besonderen Ausrichtevorrichtung, die sonst zum Herstellen von Spinnfadenkreuzen in astronomischen Okularen diente, bei mikroskopischer Beobachtung auf die drehbare Glasscheibe des Apertometers gebracht. Auf der Glasscheibe war eine gerade Linie geätzt, deren Enden als Index zum Ablesen der Aperturenskala dienten und deren Richtung durch den Drehungsmittelpunkt der Scheibe lief, was dadurch sichergestellt war, daß die Ätzung auf der Teilmaschine vorgenommen wurde. In der Mitte war der Ätzstrich unterbrochen und hier wurde der Glasfaden so aufgelegt, daß seine Enden sich mit dem Ätzstrich deckten. Die Enden wurden mit einem Klebstoff fixiert, damit die Spannung im Faden nicht verloren ging.

Die Genauigkeit der Messungen hängt von der Breite des Schlitzes ab, der an dem Beleuchtungsprisma angebracht war und $^1/_3$ mm breit gehalten wurde. Dadurch wurde erreicht, daß bis auf zwei Stellen

die Apertur genau bestimmbar war. Durch Anbringung eines Nonius an Stelle eines Index könnte man diese Genauigkeit noch leicht steigern, doch wird man im allgemeinen die Aperturenmessung der Mikroskopobjektive nicht weiter verbessern wollen.

Zum Schluß sei erwähnt, daß man selbstverständlich auch neben der direkten Beobachtung des Fadens eine Beobachtung der Beugungserscheinung in der hinteren Brennebene zur Messung vornehmen kann. Man sieht deutlich nach Entfernung des Okulares beim Hineinschauen in den Tubus die stets senkrecht zum Faden liegende Beugungsgerade (10), die sich beim Drehen der Glasscheibe des Apertometers um einen außerhalb des Blendenrandes des Objektives liegenden Punkt, die Spur der Beleuchtung in der hinteren Brennebene, dreht. Sowie sie den Blendenrand berührt, verschwindet im Sehfeld nach Einsetzen des Okulares das Fadenbild.

Da die Spur der Beleuchtung in der hinteren Brennebene des Objektives von der Mitte um den Betrag: Brennweite f des Objektives mal Apertur der Beleuchtung a_k absteht, das Lot vom Mittelpunkt des Objektives zum Berührungspunkt der Beugungsgeraden mit dem Blendenrand gleich Brennweite des Objektives mal Apertur a_0 desselben ist, und der Winkel ζ zwischen der Beugungsgeraden bei der Berührung mit dem Blendenrand und der Stellung, wo sie durch die Objektivmitte verläuft, gleich der Fadendrehung von der senkrechten Stellung zum Azimut der Beleuchtung bis zur Verschwindungsstelle ist, so gilt einfach

$$f \cdot a_k \cdot \sin \zeta = f \cdot a_0$$

oder

$$a_k \cdot \sin \zeta = a_0,$$

womit die dem Apparat eigentümliche Messung der Apertur a_0 mittels der konstanten Apertur der festen einseitig schiefen Dunkelfeldbeleuchtung a_k und der Drehung des Fadens um den Winkel ζ bis zur Lage des Verschwindens erklärt ist. Wegen ausführlicher Begründung der hier obwaltenden Beziehungen mag auf eine frühere Abhandlung des Verfassers verwiesen werden (3).

Literaturverzeichnis.

1) Flögel, J. H. L., Botan. Zeitung Jahrg. 27, 1869, No. 43, 44 u. 45.
2) Nelson, E. M., Journ. R. Micr. Soc. 1910, p. 282—289.
3) Siedentopf, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 29, 1912, p. 26.

4) Cross, M. J., Knowledge 1912, p. 37.
5) Conrady, A. E., Journ. Quek. Micr. Club [2] vol. **11**, 1912, p. 475—480.
6) Lister, J. J., Phil. Trans. 1830, p. 189.
7) Mohl, H. v., Mikrographie oder Anleitung zur Kenntnis und zum Gebrauch des Mikroskopes, Tübingen 1846, p. 192.
8) Siedentopf, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **29**, 1912, p. 11.
9) Siedentopf, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **26**, 1909, Taf. V.
10) Siedentopf, H., Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **29**, 1912, p. 32.

Anm. d. Red.: Herr Dr. Siedentopf ist zum Heeresdienst einberufen worden; auf seinen Wunsch wurden die Korrekturen von Herrn Prof. H. Ambronn, Jena, besorgt.

[Eingegangen am 25. April 1915.]

Kohärente Aperturbereiche bei Hellfeldbeleuchtung von Kreuzgittern.

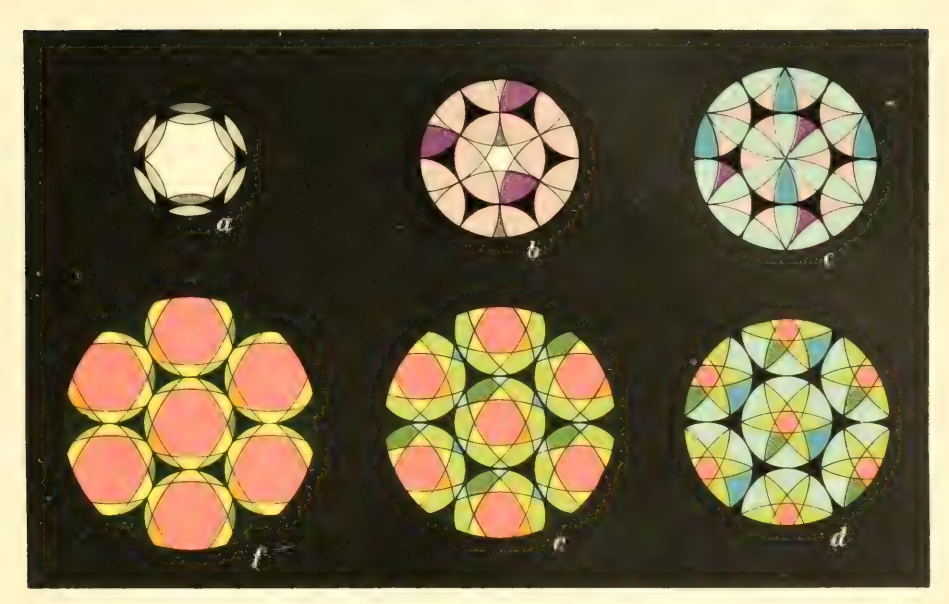


Fig. 1. Öffnungsbilder bei gleicher Irisöffnung und verschiedenen Objektivaperturen.

Fig. 2. Öffnungsbilder bei gleicher Objektivapertur und verschiedener Irisöffnung.

Siedentopf.

Verlag von S. Hirzel, Leipzig.





Fig. 3.

Fig. 4.

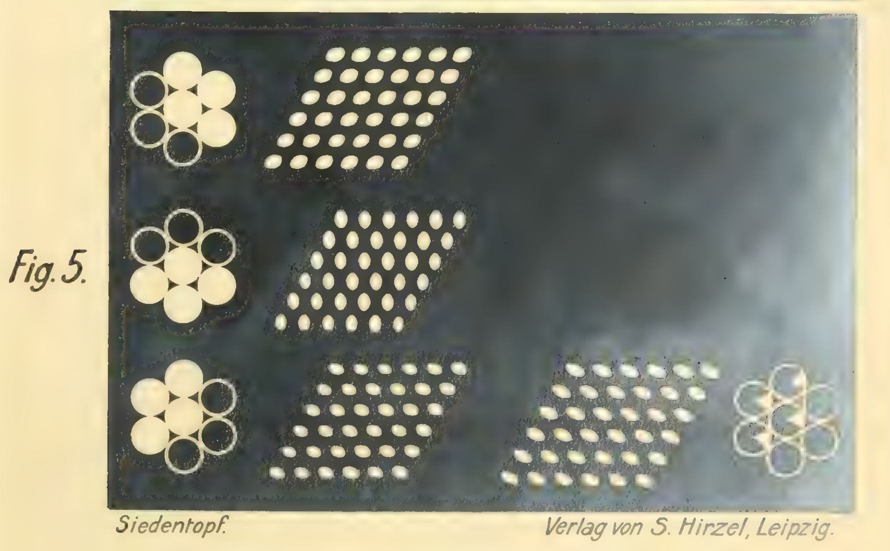


Fig. 5.

Siedentopf. Verlag von S. Hirzel, Leipzig.



Fig. 10.

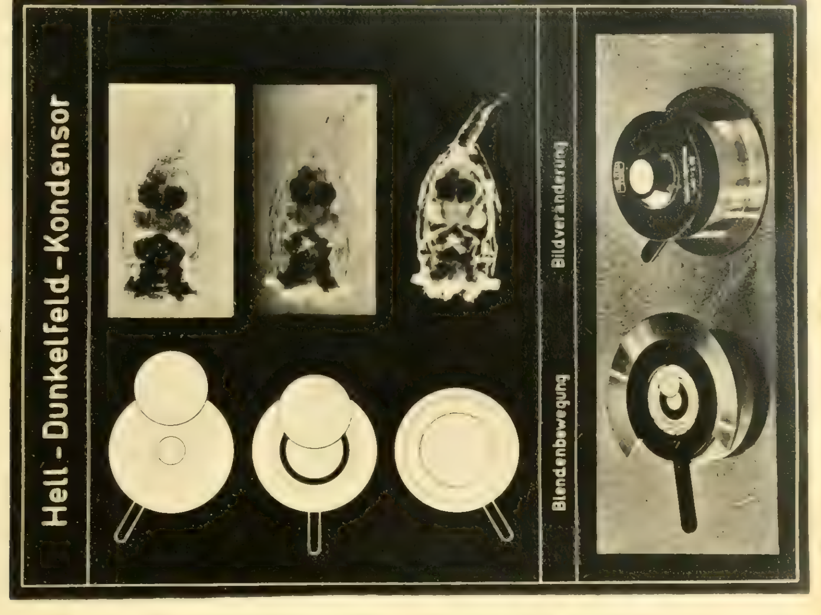

Hell-Dunkelfeld-Kondensor
Blendenbewegung
Bildveränderung

Fig. 9.

Abbildung periodischer Strukturen
Striche pro Zoll 30000
25000
20000
Aufnahmen bei gelbem Licht mit Hell-Dunkelfeld-Kondensor und Objektiv von 0,5 Apertur



[Mitteilung aus dem Institut für Mikroskopie an der Universität Jena.]

Über Stäbchendoppelbrechung im Zelloïdin und in der Gelatine.

Von

H. Ambronn

in Jena.

M. Schultze hat bereits vor mehr als 50 Jahren nachgewiesen, daß fein gestreifte Diatomeenschalen in Luft zwischen gekreuzten Nicols bei bestimmter Lage hell erscheinen, also Doppelbrechung zeigen. Zugleich haben seine Beobachtungen aber auch ergeben, daß diese Doppelbrechung verschwindet, wenn die Schalen nicht in Luft, sondern in Kanadabalsam eingebettet werden[1]. Er verglich diese Erscheinung mit dem Aufleuchten feiner Gitter zwischen gekreuzten Nicols, wie man es z. B. an den Nobertschen Platten bei diagonaler Lage der Gitterstriche gegen die Polarisationsebene gut beobachten kann. Beim Einschalten eines Gipsplättchens treten Additions- und Subtraktionsfarben auf. Wählt man Pleurosigma angulatum als Objekt, so zeigen die Schalen Additionsfarben, wenn die längere Achse der Indexellipse des Gipsplättchens parallel zur Mittelrippe liegt; bei Amphipleura pellucida erscheint dagegen die Additionsfarbe, wenn jene Richtungen gekreuzt sind. Bei diesen beiden Arten ist also das Vorzeichen der Doppelbrechung in bezug auf die Mittelrippe entgegengesetzt. Wie ich schon früher hervorgehoben habe[2], tritt eine stärkere Aufhellung bei den Diatomeenschalen nur dann ein, wenn der Brechungsexponent des Einbettungsmittels beträchtlich von 1·5 abweicht; dabei ist es gleichgültig, ob die Schalen in Luft oder in Realgar liegen; in beiden Fällen ist das Vorzeichen der Doppelbrechung dasselbe.

---

[1]) Schultze, M., Die Struktur der Diatomeenschale (Verhandl. d. naturhist. Vereins d. preuß. Rheinlande u. Westfalens, Bd. 20, 1863, p. 39).

[2]) Ambronn, H., Über das optische Verhalten und die Struktur der Tonerdefasern (Kolloidzeitschr. Bd. 6, 1910, H. 4).

Ganz ähnliche Beobachtungen konnte ich an den Tonerdefasern machen, an denen H. Wislicenus und L. Jost die optische Anisotropie zuerst festgestellt hatten[1]. Alle diese Fälle haben das Gemeinsame, daß die Doppelbrechung verschwindet, wenn die Differenz der Brechungsexponenten von Objekt und Medium annähernd Null wird.

Man hat es also mit Körpern zu tun, die in ihrem Aufbau eine bestimmte Regelmäßigkeit mit ungleichwertigen Richtungen besitzen, ähnlich wie dies auch bei den Gittern der Nobertschen Platte oder anderen feinen Teilungen der Fall ist. Das Wesentliche eines solchen Systems ist die anisotrope Anordnung von Elementen, die an sich optisch isotrop sind. Wegen der Ähnlichkeit mit der Wirkung der Gitter hat man früher diese Erscheinung auch als Gitterpolarisation bezeichnet. W. Hofmeister und andere Forscher[2] glaubten auch die Doppelbrechung in den Membranen des Pflanzen- und Tierkörpers auf eine solche Gitterpolarisation zurückführen zu können, da auch hier vielfach Streifen- und Schichtenbildungen vorhanden seien. Die Unrichtigkeit dieser Erklärung ergab sich jedoch sofort aus dem Umstand, daß die Doppelbrechung dieser Objekte durchaus nicht verschwindet oder auch nur merklich geringer wird, wenn sie in Medien von annähernd gleichem Brechungsexponenten eingebettet werden.

Nach neueren Untersuchungen von O. Wiener[3] lassen sich diese Erscheinungen an Diatomeen, Gitterteilungen und ähnlichen Objekten auf einen Vorgang zurückführen, den Wiener als Stäbchendoppelbrechung bezeichnet. Werden stäbchenförmige Teilchen so angeordnet, daß ihre Längsachsen parallel stehen, und in ein Medium eingebettet, dessen Brechungsexponent von dem der Stäbchen verschieden ist, so muß dieses System sich unter bestimmten Voraussetzungen wie ein optisch einachsiger positiver Kristall verhalten, in dem die optische Achse parallel zu den Längsachsen der Stäbchen steht. Sind beide Brechungsexponenten gleich, so verhält sich ein solches System wie ein homogener Körper und die Doppelbrechung muß verschwinden. Die Doppelbrechung ist stets positiv, sowohl

---

[1]) Wislicenus, H., Kolloidzeitschr. Bd. 2, 1909, 2. Suppl.-Heft.

[2]) Vgl. die Literatur hierüber bei V. v. Ebner, Untersuchung über die Ursachen der Anisotropie organisierter Substanzen, Leipzig 1882, p. 2 f.

[3]) Wiener, O., Zur Theorie der Stäbchendoppelbrechung (Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss., Math.-phys. Kl., Bd. 61, Sitz. v. 19. Juli 1909) und Die Theorie des Mischkörpers usw. (Abh. d. sächs. Ges. d. Wiss., Bd. 32, 1912, No. 6).

wenn der Brechungsexponent der Einbettungsmasse kleiner als der der Stäbchen ist, als auch wenn der umgekehrte Fall eintritt. Das Vorzeichen der Differenz des Brechungsvermögens bleibt also ohne Einfluß auf das Vorzeichen der Doppelbrechung. Diese Regel gilt allgemein für farblose Körper unter der Voraussetzung, daß Stäbchen und Einbettungsmittel optisch isotrop sind. Als charakteristisches Beispiel für diesen Fall im Gebiete der Lichtwellenlängen ist das Verhalten der Diatomeen und der Tonerdefasern anzuführen.

Nun sind aber offenbar auch noch zwei andere Fälle möglich: Es können die Stäbchen optisch anisotrop sein, während das Einbettungsmittel isotrop ist, oder es kommt sowohl den Stäbchen wie dem Medium, in dem sie sich befinden, optische Anisotropie zu. In beiden Fällen muß die reine Stäbchendoppelbrechung verändert werden, indem sich ihr die der Substanz eigentümliche Anisotropie überlagert. Wie man leicht einsieht, kann dann ein System von parallel gerichteten Stäbchen in einem isotropen Medium auch negative Doppelbrechung zeigen, wenn den Stäbchen an sich schon eine Anisotropie von diesem Charakter zukommt. Als Beispiele für diesen Fall könnte man wohl das Verhalten des Kirschgummis und einiger anderer Gummiarten, wie Cycadeen- und Tragantgummi anführen, aus denen sich Fäden ziehen lassen, deren Doppelbrechung in bezug auf die Längsachse negativ ist. Ganz ebenso reagieren Fäden, die man aus einer innigen Mischung von Wachs und Kolophonium erhält. Wegen der Einzelheiten dieser Beobachtungen verweise ich auf einige frühere Mitteilungen[1]. Der durch die Anisotropie der Substanz der Stäbchen hervorgerufene Gangunterschied müßte dann in den angeführten Beispielen größer sein, als der durch die Stäbchendoppelbrechung erzeugte, damit als Resultierende eine negative Doppelbrechung zustande kommen kann.

Ist nicht bloß die Substanz der Stäbchen, sondern auch das Einbettungsmittel optisch anisotrop, so wird die Sache noch verwickelter, und es kann dann die resultierende Doppelbrechung sowohl positiv wie negativ sein; dabei können große Verschiedenheiten in der Dispersion der Doppelbrechung auftreten, ja es kann das Zweistoffsystem sogar für eine Farbe, z. B. grün, isotrop, für rot positiv und für blau negativ sein. Man hätte dann Systeme von ganz ähnlichen

[1]) Ber. d. deutsch. botan. Ges. Bd. 7, 1889, p. 103; Wiedem. Ann. Bd. 38, 1889, p. 159; Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss., Math.-phys. Kl., Bd. 50, 1898, p. 1.

Eigenschaften, wie sie die Mischkristalle aus Strontium- und Bleidithionat sowie verschiedene Formen des Apophyllits besitzen. Von den Membranen des Pflanzen- und Tierkörpers würden hierher die kutikularisierten und verkorkten Zellwände und die Markscheiden der Nervenfasern gehören. Ferner sind die aus Mischungen von Kirsch- und arabischem Gummi gezogenen Fäden wahrscheinlich ebenfalls als solche Systeme von zwei anisotropen Körpern zu betrachten. Und als ein noch deutlicheres Beispiel wäre das aus einer Mischung von Nitrozellulose und Kampfer bestehende Zelluloid anzuführen, bei dem auch jene merkwürdigen Anomalien in der Dispersion der Doppelbrechung auftreten, wie sie für die Apophyllite seit langem bekannt sind[1].

Werden Kolloide im Gelzustand, wenn sie mit Wasser oder anderen Flüssigkeiten imbibiert sind, durch Spannungen bleibend deformiert, so zeigen sie im allgemeinen eine deutliche Doppelbrechung. Es liegen schon zahlreiche an Gelatine oder anderen Kolloiden angestellte Untersuchungen vor, die über die Beziehungen dieser Doppelbrechung zu der Größe der Spannung, der Deformation usw. Aufschluß geben sollten. Die Resultate stimmen durchaus nicht überein, und die Mitwirkung einer Stäbchendoppelbrechung im Sinne Wieners ist meines Wissens überhaupt noch nicht erörtert worden. Und doch ist es von vornherein sehr wahrscheinlich, daß wir es bei solchen imbibierten Körpern in der Regel mit einer Verschiedenheit der Brechungsexponenten der Grundsubstanz und der Imbibitionsflüssigkeit zu tun haben, und daß ferner durch die starke Deformation eine annähernd gleichsinnige Orientierung der Teilchen herbeigeführt wird. Besitzen diese Teilchen eine räumliche Anisotropie, d. h. sind sie stäbchenförmig oder ellipsoidisch gestaltet oder haben sie sonst eine Form, in der eine deutliche Längsachse ausgebildet ist, so sind damit auch alle Bedingungen für das Auftreten der Stäbchendoppelbrechung erfüllt. Sind sie außerdem noch an sich schon optisch anisotrop, so muß zugleich eine Überlagerung der der Substanz eigentümlichen Doppelbrechung durch die Stäbchendoppelbrechung stattfinden.

Es wird sogar durch richtige Auswahl der Imbibitionsflüssigkeit möglich sein, eine Entscheidung darüber herbeizuführen, ob nur Stäbchendoppelbrechung vorliegt oder ob deren Zusammenwirken mit

---

[1]) Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss., Math.-phys. Kl., Bd. 63, 1911, p. 249 u. 402; Kolloidzeitschr. Bd. 9, 1911, H. 4, p. 147; Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. 52, 1913, p. 48.

einer der Substanz an sich zukommenden optischen Anisotropie besteht. Auf diese Weise könnte auch die vielumstrittene Frage entschieden werden, ob für die Micelle im Sinne Nägelis — oder wie man diese Molekülkomplexe auch nennen mag — an sich schon eine optische Anisotropie besteht oder ob alle Richtungen in ihnen optisch gleichwertig sind.

Von diesem Gesichtspunkte aus sind die im nachstehenden dargelegten Untersuchungen ausgeführt worden. Es soll jedoch, wie ich ausdrücklich bemerke, hier nur eine kurze Übersicht über die qualitativen Resultate gegeben werden; eine ausführlichere Zusammenstellung der quantitativen Ergebnisse muß der Veröffentlichung an anderer Stelle vorbehalten werden. Ich werde hier auch nur die mit dem Zelloïdin und der Gelatine angestellten Versuche beschreiben, weil diese beiden Körper jedem Mikroskopiker leicht zugänglich sind.

Bei meinen weiteren Versuchen über die akzidentelle Doppelbrechung des Zelluloids hatte ich auch das Verhalten des Zelloïdins studiert. Diesen in der Mikrotomtechnik viel benutzten Körper erhält man im Handel in Form von dicken Tafeln, die die Konsistenz einer schwach gequollenen ziemlich festen Gelatine besitzen. Nimmt man sie frisch aus den Blechkapseln heraus, so enthalten sie noch reichlich Flüssigkeit, nämlich ein Gemisch aus Alkohol und Äther. Schneidet man aus diesen Platten Streifen heraus, die einige Millimeter Dicke besitzen, so erweisen sich diese im frischen Zustand nach allen Richtungen als optisch isotrop. Man kann nun leicht solche Streifen starken Deformationen unterwerfen, da sie sehr plastisch sind. Sie lassen sich z. B. durch Zug oder Druck um 100 Prozent ihrer ursprünglichen Länge dehnen oder verkürzen, oder auch bogenförmig ganz eng zusammenbiegen. Dabei tritt schon bei ganz geringer Spannung bleibende Deformation auf, und selbst ein um 100 Prozent verlängerter Streifen zeigt nach Aufhören der Spannung nur eine ganz geringe Verkürzung. Wie ich schon früher mitgeteilt habe[1], tritt bei dieser Deformation die normale positive Doppelbrechung auf, es liegt also die längere Achse der Indexellipse parallel der Zugrichtung. Wenn es sich nicht um genauere Messungen handelt, lassen sich die Achsenlagen am besten übersehen bei stark gebogenen Streifen, da hier Deformation durch Zug und Druck direkt nebeneinander beobachtet werden kann. Da bei frischem Material die

[1]) Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss., Math.-phys. Kl., Bd. 63, 1911, p. 249—257, 402—406.

Imbibitionsflüssigkeit rasch austrocknet, wenn man nicht besondere Vorsichtsmaßregeln trifft, so ist es für die Ausführung der Versuche bequemer, die Streifen vorher längere Zeit in Wasser zu legen, es wird dann die zuerst vorhandene Imbibitionsflüssigkeit durch das Wasser verdrängt. Auch in diesem Zustand zeigen die Streifen große Plastizität und lassen sich in derselben Weise stark deformieren.

Auf Grund dieser Beobachtungen hatte ich bei meinen Untersuchungen über das Zelluloid geschlossen, daß die anomalen Erscheinungen bei der akzidentellen Doppelbrechung dieser Substanz auf das Zusammenwirken der darin enthaltenen zelloïdinartigen Nitrozellulose und des eingelagerten Kampfers zurückgeführt werden könnten. Das entgegengesetzte Vorzeichen der Doppelbrechung der beiden Komponenten läßt in der Tat eine ganz plausible Erklärung des merkwürdigen Verhaltens deformierter Zelluloidstreifen zu, und das ganz ähnliche Verhalten der Mischkristalle aus Strontium- und Bleidithionat, die ich später untersuchte, schien die Berechtigung jener Erklärung zu bestätigen. Auch noch andere Versuche sprachen entschieden für das Zusammenwirken einer optisch positiven und einer negativen Komponente im Zelluloid. So kann man z. B. durch längere Behandlung der stark deformierten Zelluloidstreifen mit einer Kampfer lösenden Flüssigkeit, am besten mit Xylol, den Kampfer allmählich ganz entfernen und während des Herauslösens sehr gut beobachten, wie die vorher vorhandene negative Doppelbrechung, die durch ihre starke Dispersion gekennzeichnet ist, in die positive mit viel geringerer Dispersion übergeführt wird, ohne daß dabei irgendwelche Änderungen in der äußeren Form der Streifen eintreten. Die sehr mannigfaltigen Wandlungen in den Interferenzfarben während des allmählich erfolgenden Herauslösens des Kampfers lassen sich am besten beobachten, wenn aus den Streifen keilförmige Stücke herausgeschnitten und diese in Xylol eingelegt werden. Läßt man diesen Vorgang in einem kleinen Glastrog sich abspielen, so kann man das langsame Vordringen der Lösung des Kampfers viele Tage hindurch an den zonenförmig nach innen fortschreitenden Änderungen der Interferenzfarben gut beobachten. Es treten dabei natürlich auch ganz andere Farbentöne auf, als in der Newtonschen Skala, da ja die Dispersion der Doppelbrechung sich fortwährend entsprechend dem Verschwinden oder vielmehr dem Gelöstwerden des Kampfers ändern muß und außerdem eine Umkehr des Vorzeichens der Anisotropie stattfindet. An dem Fortschreiten dieser Veränderungen ließe sich wohl mancher Aufschluß über die Diffusion der lösenden Flüssigkeit innerhalb des Zellu-

loids erhalten, doch kann darauf hier nicht eingegangen werden. Ich möchte nur noch erwähnen, daß auch der umgekehrte Verlauf beobachtet werden kann. Bringt man Streifen, aus denen der Kampfer herausgelöst worden ist, nunmehr in eine gesättigte Lösung von Kampfer in Xylol, die noch überschüssigen Kampfer enthält, so kann man nach einiger Zeit eine abermalige Umkehr des Vorzeichens der Doppelbrechung feststellen.

Kurz zusammengefaßt läßt sich demnach folgendes sagen: Ein gedehnter Zelluloidstreifen zeigt negative Doppelbrechung in bezug auf die Dehnungsrichtung; wird der Kampfer durch längere Behandlung mit Xylol entfernt, so kehrt sich der Charakter der Doppelbrechung um, die längere Achse der Indexellipse liegt jetzt parallel der Dehnungsrichtung. Wird der Streifen nunmehr in eine gesättigte Kampferlösung gebracht, so wird offenbar in den submikroskopischen Räumen, in denen sich vorher die Kampferteilchen befanden, wieder Kampfer in fester Form abgeschieden, und zwar in derselben Orientierung wie früher. Die Folge davon muß sein, daß nun auch wieder der frühere Charakter der Doppelbrechung auftritt.

Von besonderem Interesse ist es, daß bei diesem ganzen als reversibel zu bezeichnenden Vorgange keine bemerkbare Formveränderung des Streifens auftritt, wenigstens wenn man den Versuch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ausführt.

Auf Grund dieser Ergebnisse an gedehnten Zelluloidstreifen lassen sich wohl auch jetzt noch die Schlüsse über das Zustandekommen der anomalen Doppelbrechung beim Zelluloid aufrechterhalten, die früher von mir gezogen wurden, denn die nach Herauslösen des Kampfers zurückbleibende normale Doppelbrechung mit positivem Vorzeichen läßt das optische Verhalten der Grundsubstanz im Aufbau des Zelluloids deutlich erkennen. Anders aber verhält es sich mit den an dem käuflichen Zelloïdin gewonnenen Resultaten, nach denen die bei der Deformation dieses Körpers auftretenden Erscheinungen nicht mehr direkt zur Stütze jener Erklärung herbeigezogen werden können. Zwar das Verhalten des frischen oder mit Wasser imbibierten Zelloïdins würde ganz gut damit übereinstimmen, aber die Sache wird ganz anders, wenn statt Wasser andere Flüssigkeiten, z. B. Glyzerin, zum Imbibieren der Streifen verwendet werden. Dabei ergibt sich ein ganz merkwürdiges Resultat, das auf eine Mitwirkung von Stäbchendoppelbrechung in diesem Falle mit Sicherheit schließen läßt. Legt man die aus frischem oder mit Wasser imbibiertem Zelloïdin hergestellten Streifen und Keile einige

Tage in konzentriertes Glyzerin, so tritt zwar keine merkbare Formveränderung, wohl aber eine sehr wesentliche Umwandlung in ihrem optischen Verhalten ein. Alle Streifen und Keile zeigen zwischen gekreuzten Nicols in ihrer ganzen Ausdehnung, also trotz sehr verschiedener Dicke, dieselbe leuchtend purpurrote Interferenzfarbe, wie sie dem Rot I. Ordnung in einem Gips- oder Quarzkeil zukommt. Daß derselbe Farbenton bei ganz verschiedener Dicke auftrat, war zunächst etwas überraschend, denn wenn die Farbe durch den Gangunterschied von 1 λ für grün zustandegekommen wäre, dann hätte dies nur für eine bestimmte Dicke der Fall sein können. Auch der Vergleich mit einem Gipsplättchen Rot 1. Ordnung ergab, daß zwar der Farbenton derselbe sei, daß aber eine ganz andere Ursache vorliege. Es treten nämlich in Verbindung mit dem Gipsplättchen dieselben Farbenänderungen ein, wie sie diejenigen Mischkristalle der erwähnten beiden Dithionate zeigen, bei denen die Doppelbrechung für grün Null geworden ist, während noch für rot positive und für violett negative Doppelbrechung besteht. Daß dies bei den gedehnten Zelloïdinstreifen in Glyzerin auch der Fall ist, kann man auf verschiedene Weise zeigen. Zunächst natürlich am sichersten durch Untersuchung im monochromatischen Licht. Sehr bequem ist hierzu die Quecksilberbogenlampe nach A. Köhler in Verbindung mit den Lichtfiltern für die Wellenlängen 435 $\mu\mu$, 546 $\mu\mu$ und 579 $\mu\mu$; das Mikroskop muß dabei mit einem Kompensatorokular nach H. Siedentopf ausgerüstet sein. Für einen Wellenlängenbezirk von etwa 650 $\mu\mu$ wurde statt der Quecksilberbogenlampe eine Mikroskopier-Nernst-Lampe in Verbindung mit einer guten Rotglasplatte benutzt, die nur einen schmalen Bezirk in der Nähe der C-Linie durchließ. Bei der Untersuchung eines 2 mm dicken Streifens, der um 100 Prozent deformiert war, ergab sich im Glyzerin für 546 $\mu\mu$ überhaupt kein Gangunterschied, es bestand also für grün völlige Isotropie. Dagegen zeigte schon die Untersuchung bei 579 $\mu\mu$ deutliche Doppelbrechung, und zwar lag die längere Achse der Indexellipse parallel der Dehnungsrichtung. Eine noch stärkere Doppelbrechung von demselben Charakter ergab sich bei Verwendung des roten Lichtes von etwa 650 $\mu\mu$. Auch im Lichte von 435 $\mu\mu$ war die Doppelbrechung stark, sie hatte aber jetzt das entgegengesetzte Vorzeichen, die Verhältnisse lagen also ganz ähnlich wie bei jenen Mischkristallen.

Da für grün Isotropie besteht, so muß diese Farbe zwischen gekreuzten Nicols ausgelöscht werden; die übrigen Farben nehmen aber mit Gangunterschieden, die vom grün aus nach beiden Seiten

sich steigern, an der resultierenden Interferenzfarbe teil, folglich muß diese Farbe ein Rot sein, das mit dem Rot I. Ordnung in einem Gipskeil ungefähr übereinstimmt. Dasselbe müßte allerdings auch eintreten, wenn bei Isotropie im grün der Charakter der Doppelbrechung für rot und violett der gleiche wäre. Ich war zunächst geneigt, anzunehmen, daß dieser letztere Fall vorliege, und daß die Doppelbrechung ausschließlich als Stäbchendoppelbrechung im Sinne von O. Wiener zu betrachten sei. In diesem Falle müßte aber das Vorzeichen der Doppelbrechung für alle Farben mit Ausnahme des Grüns, für das sie Null wird, positiv in bezug auf die Dehnungsrichtung sein. Als Ursache wäre dann die jedenfalls vorhandene Verschiedenheit in der Dispersion des Glyzerins und der Grundsubstanz des Streifens zu betrachten. Wenn nämlich die Brechungsexponenten beider Körper für grün gleich sind, so werden für rot und violett geringe Verschiedenheiten in der Weise bestehen, daß für violett der Brechungsexponent des Glyzerins größer als der des Zelloïdins ist und für rot das umgekehrte eintritt. Die Untersuchung beweist aber, daß die Stäbchendoppelbrechung, die etwa durch diese geringen Unterschiede entstehen würde, nicht als Ursache der beschriebenen Erscheinung betrachtet werden kann, denn sonst dürfte das Vorzeichen der Doppelbrechung für rot und violett nicht entgegengesetzt sein. Es bleibt deshalb nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß die Ursache in einer Eigenschaft des Zelloïdins selbst zu suchen ist.

Es ist seit langem aus Beobachtungen Nägelis bekannt, daß Nitrozellulosen von verschiedenem Stickstoffgehalt auch ein verschiedenes optisches Verhalten besitzen. Die hochnitrierten Zellulosen mit etwa 13 Prozent N-Gehalt zeigen starke, in bezug auf die Längsachse der Fasern negative Doppelbrechung, während die schwach nitrierten mit etwa 10·5 Prozent N-Gehalt zwar ebenfalls starke Doppelbrechung aber von entgegengesetztem Charakter besitzen. Nun existieren aber zwischen diesen beiden eine Reihe Nitrierungsstufen, bei denen die Doppelbrechung erheblich schwächer ist; und ungefähr in der Mitte zwischen 13 und 10·5 Prozent N-Gehalt, nämlich bei etwa 11·8 Prozent, wird die Doppelbrechung für die verschiedenen Farben des Spektrums nacheinander gleich Null. Dieser merkwürdige Übergang in dem Vorzeichen der Doppelbrechung von positiv durch Null hindurch zu negativ ist vor einiger Zeit von Hans Ambronn genauer verfolgt worden; es hat sich dabei ergeben, daß gerade diejenigen Nitrozellulosen, die zur Herstellung von Zelloïdin, Kollodium und ähnlichen Präparaten verwendet werden,

jenen mittleren Stickstoffgehalt haben, bei dem die Doppelbrechung nacheinander für die einzelnen Farben auf Null herabgeht. So zeigten Fasern mit etwa 11·8 Prozent N-Gehalt zwischen gekreuzten Nicols als Interferenzfarbe nicht etwa ein helleres oder dunkleres Grau, sondern lebhafte Farbentöne von rot bis violett; und es ergab sich bei genauerer Untersuchung im monochromatischen Licht oder auch mit dem Spektropolarisator, daß in jedem einzelnen Falle die Doppelbrechung für die Komplementärfarbe auf Null herabgegangen war. Man kann, wie in der erwähnten Arbeit gezeigt worden ist, diese verschiedenen Farbentöne nacheinander in derselben Faser beobachten, wenn man eine hochnitrierte Faser während der Denitrierung durch geeignete Mittel untersucht; man sieht dann, daß dabei die Doppelbrechung allmählich für jede Farbe auf Null herabgeht und bei noch weiter fortschreitendem Denitrieren wieder ansteigt, nun aber das entgegengesetzte Vorzeichen erhält[1].

Macht man nun die Annahme, daß das verwendete Zelloïdin aus solchen Nitrozelluloseteilchen aufgebaut ist, denen die eben geschilderten Eigenschaften, wie sie bei etwa 11·8 Prozent Stickstoffgehalt auftreten, eigentümlich sind, so wird das ganze System, das aus parallel orientierten Teilchen besteht, ebenfalls diese charakteristische Doppelbrechung zeigen, wenn keine Überlagerung durch Stäbchendoppelbrechung hinzukommt. Sind aber die mittleren Brechungsexponenten der Zelloïdinteilchen und der Imbibierungsflüssigkeit annähernd gleich, so muß die ausschließlich durch Verschiedenheit des Brechungsvermögens beider Komponenten verursachte Stäbchendoppelbrechung ganz oder fast ganz verschwinden. Man hat es nun in der Hand, durch Veränderung des Brechungsexponenten der Imbibierungsflüssigkeit sowohl im Sinne einer Erhöhung wie einer Erniedrigung mehr oder minder starke Stäbchendoppelbrechung hervorzurufen. Das bei den Versuchen benutzte Glyzerin hat bei Zimmertemperatur für die D-Linie den Brechungsexponenten 1·453. Daß der mittlere Brechungsexponent des konzentrierten Glyzerins fast ganz mit dem des Zelloïdins übereinstimmt, kann man auch schon daraus ersehen, daß die in dieser Flüssigkeit längere Zeit aufbewahrten Zelloïdinstreifen im durchfallenden Lichte fast ganz unsichtbar sind, infolge der Übereinstimmung des Brechungsvermögens beider Substanzen müssen die Konturen der Streifen verschwinden.

---

[1] Ambronn, Hans. Über die Änderung des optischen Verhaltens der Zellulose bei der Nitrierung (Jenaer Inaug.-Diss. 1913, p. 23—25).

Man kann sich nun leicht durch Vermischen des Glyzerins mit Wasser eine Reihe von Flüssigkeiten herstellen, deren Brechungsexponenten zwischen denen des Wassers und des Glyzerins beliebig abgestuft sind. Schon bei geringem Wasserzusatz, bei dem der Exponent um mehrere Einheiten in der dritten Dezimale erniedrigt wird, verändert sich die Farbe von rot in orange, ja diese Umwandlung tritt schon ein, wenn die Erniedrigung im Brechungsvermögen des unverdünnten Glyzerins durch schwache Erwärmung auf etwa 40 bis 50° bewirkt wird; nach dem Erkalten tritt dann allerdings die frühere purpurrote Farbe wieder ein. Verdünnt man das Glyzerin noch mehr, so sieht man jetzt besonders gut an den aus dickeren Streifen geschnittenen Keilen, wie allmählich die Doppelbrechung erhöht wird. Jetzt ist der Keil nicht mehr in seiner ganzen Ausdehnung gleichmäßig gefärbt, sondern er zeigt bei genügender Dicke von der Keilkante bis zur dicksten Stelle schon die sämtlichen Farben der ersten Ordnung, wenn auch die Farbentöne dabei etwas anders sind als in einem Gipskeil; denn die jetzt eingetretene Stäbchendoppelbrechung wird noch merkbar überlagert von der dem Zelloïdin eigentümlichen Doppelbrechung. Je stärker nun die Verdünnung wird, desto mehr treten die gewöhnlichen Farben ein, und in einem Keil, dessen größte Dicke etwa 4 mm beträgt, werden in einer Verdünnung von 1 : 1 schon mehrere Farbenordnungen sichtbar, die Überlagerung der starken positiven Stäbchendoppelbrechung durch die der Substanz eigentümlichen ist jetzt nicht mehr bemerkbar. Die Zahl der Farbenordnungen wird nun noch erheblich größer, wenn schließlich reines Wasser als Imbibitionsflüssigkeit wirkt. Es soll, wie schon gesagt, nicht auf die interessanten quantitativen Beziehungen zwischen dem Wassergehalt des Glyzerins und der Stärke der Doppelbrechung eingegangen werden, nur soviel möchte ich erwähnen, daß man über die qualitativen Änderungen, die sich dabei abspielen, einen sehr guten Überblick bekommt, wenn man einen mit konzentriertem Glyzerin imbibierten Keil direkt in einen größeren Trog mit reinem Wasser bringt und nun durch längere Zeit hindurch das Auswaschen des Glyzerins und die dadurch hervorgerufenen Umwandlungen im optischen Verhalten verfolgt.

In ganz entsprechender Weise kann man durch Zusätze zum Glyzerin, die dessen Brechungsexponenten erhöhen, z. B. durch Chloralhydrat, eine Veränderung der roten Farbe in violett, blau und grünlich-graublau erzielen, wenn das Brechungsvermögen nur wenig gesteigert wird. Die Erklärung für diese Reihenfolge der Farben bei

schwacher Erniedrigung und Erhöhung des mittleren Brechungsexponenten der Imbibitionsflüssigkeit ist wohl mit Sicherheit darin zu suchen, daß dadurch nacheinander für die verschiedenen Farben des Spektrums die Stäbchendoppelbrechung vollständig verschwindet und dann zwischen gekreuzten Nicols als resultierende Interferenzfarbe die entsprechende Komplementärfarbe auftreten muß, wobei allerdings zu beachten ist, daß dabei immer noch ein Zusammenwirken der Eigendoppelbrechung der Substanz mit der schwachen Stäbchendoppelbrechung für die übrigen Farben zustande kommt, wodurch die Farbentöne noch charakteristische Veränderungen erfahren.

Wird der Brechungsexponent der Imbibitionsflüssigkeit erheblich stärker erhöht, so tritt wieder für alle Farben positive Doppelbrechung auf. Eine solche Erhöhung kann man allerdings durch das Glyzerin als Zwischenmedium schwer erreichen. Man verfährt dabei am besten so, daß man durch Alkohol, Xylol und ähnlichen Zwischenmedien, die das Zelloïdin selbst aber nicht verändern dürfen, zu indifferenten Flüssigkeiten wie Monobromnaphthalin oder Schwefelkohlenstoff übergeht. Diese Versuche sind sehr zeitraubend, da man die Verdrängung der einzelnen Flüssigkeiten durch die anderen immer nur ganz allmählich vornehmen darf, damit keine Trübungen und andere Störungen auftreten. Hat man aber einmal erreicht, daß die Zelloïdinpräparate z. B. mit Schwefelkohlenstoff oder Monobromnaphthalin vollständig durchtränkt sind, so besteht nun wieder eine große Differenz zwischen den beiden Brechungsexponenten, und damit tritt auch wieder eine starke Stäbchendoppelbrechung auf, die denselben Charakter wie bei der Imbibition mit Wasser hat. Die Differenz der Brechungsexponenten zwischen Zelloïdin und Wasser und zwischen Zelloïdin und Schwefelkohlenstoff ist von entgegengesetztem Vorzeichen, die Doppelbrechung hat aber in beiden Fällen denselben Charakter. Dieses Verhalten stimmt demnach mit der Wienerschen Theorie der Stäbchendoppelbrechung gut überein.

Zusammenfassend kann man also sagen: Die geschilderten Versuchsergebnisse berechtigen zu der Annahme, daß der Hauptanteil der gesamten Doppelbrechung des Zelloïdins in dieser Form als Stäbchendoppelbrechung aufzufassen ist, und daß die im konzentrierten Glyzerin noch zu beobachtende Doppelbrechung, die für verschiedene Farben umgekehrtes Vorzeichen besitzt, auf die optischen Eigenschaften der Teilchen des Zelloïdins selbst zurückgeführt werden muß. Ist aber dieser Schluß wirklich berechtigt, so ergibt sich daraus die wichtige Tatsache,

daß den einzelnen Teilchen selbst eine Ungleichwertigkeit der Richtungen auch im optischen Sinne zukommt.

Im Anschluß an die vorstehenden Darlegungen soll hier noch auf zwei Punkte hingewiesen werden, die in einem gewissen Zusammenhange damit stehen. Es ist schon in der Einleitung hervorgehoben worden, daß in einem solchen System, wie es gedehnte Zelloïdinstreifen darstellen, die Einlagerung einer an sich schon optisch anisotropen Komponente das Verhalten wesentlich verändern könne. Wie ich früher schon bei meinen Untersuchungen über die Tonerdefasern festgestellt habe, daß z. B. die Einlagerung von dichroitischen Farbstoffen, wie Kongorot, auch einen starken Dichroismus der Fasern hervorrufe, so war nun auch zu erwarten, daß die Zelloïdinstreifen nach Färbung mit diesem Körper ebenfalls eine starke Verschiedenheit in der Absorption nach verschiedenen Richtungen zeigen würden. Dies ist in der Tat leicht nachzuweisen. Die Anfärbung mit Kongorot gelingt ohne weiteres, und die gefärbten Streifen zeigen einen starken Dichroismus in der Weise, daß die stärkere Absorption erfolgt, wenn Dehnungsrichtung und Polarisationsebene des Polarisators gekreuzt liegen. Es lag nun die Frage nahe, ob dieser Dichroismus auch erhalten bleibe, wenn die Streifen anstatt mit Wasser mit konzentriertem Glyzerin imbibiert werden. Die Anordnung der bei der Färbung einmal eingelagerten Kongorotteilchen erfährt ja dadurch keine Änderung, und in der Tat blieb der Dichroismus nach der vollständigen Imbibierung mit Glyzerin in der alten Stärke bestehen. Untersucht man einen solchen gefärbten Streifen im roten Licht, so zeigt er jetzt starke Doppelbrechung, die wohl ohne Zweifel auf die gleichsinnig orientierten Farbstoffteilchen zurückgeführt werden darf. Während also das System Zelloïdin-Glyzerin für rot nur schwache Doppelbrechung aufweist, wird diese durch das Einlagern des Kongorots ganz bedeutend, und zwar in dem gleichen Sinne verstärkt.

Der andere Punkt, auf den hier noch kurz hingewiesen werden soll, betrifft die Veränderungen im optischen Verhalten des Zelloïdins, wenn eine chemische Umwandlung eintritt. Es soll dabei nur der wichtigste Fall erwähnt werden. Es ist bekannt, daß man durch geeignete Mittel die Nitrozellulose denitrieren, also in reine Zellulose überführen kann. Verwendet man hierzu das Ammoniumsulfid, so vollzieht sich in kurzer Zeit die vollständige Denitrierung, ohne daß eine merkbare Formveränderung stattfindet. Die Orientierung der einzelnen Teilchen wird dadurch also kaum gestört werden.

Aber diese Teilchen, die vorher aus Nitrozellulose bestanden, haben jetzt die Eigenschaften der reinen Zellulose, und es läßt sich nunmehr in ganz ähnlicher Weise wie bisher prüfen, ob es eine Imbibitionsflüssigkeit gibt, bei der die Stäbchendoppelbrechung infolge annähernder Gleichheit der Brechungsexponenten ausgeschaltet werden kann. Diese Prüfung müßte zugleich eine Entscheidung darüber ermöglichen, ob den Zelluloseteilchen selbst in ihrem optischen Verhalten ebenfalls eine Ungleichwertigkeit der Richtungen zukomme. Die bisher nach dieser Richtung angestellten Versuche haben über diese Frage schon ein ganz sicheres Resultat ergeben, wenn auch die genauere quantitative Verfolgung noch nicht abgeschlossen ist. Das Wesentliche soll im folgenden kurz mitgeteilt werden.

Durch die vollständige Denitrierung und nach genügendem Auswaschen in Wasser wird die Stärke der Doppelbrechung beträchtlich erhöht. Bringt man jetzt die Streifen oder Keile längere Zeit in konzentriertes Glyzerin, so erkennt man deutlich, daß die Doppelbrechung in diesem höherbrechenden Mittel etwas verringert worden ist. Man kann nun durch Mischungen von Glyzerin und Benzylalkohol, dessen mittlerer Brechungsexponent gleich 1·540 ist, als Zwischenmedien eine ganze Reihe von Flüssigkeiten herstellen, deren Brechungsexponenten zwischen 1·460 und 1·540 liegen. Von hier ab kann man eine weitere Reihe von Flüssigkeiten durch Mischung von Benzylalkohol und Monobromnaphthalin herstellen, deren Brechungsexponenten zwischen 1·540 und 1·650 liegen. Da mit Sicherheit anzunehmen ist, daß das mittlere Brechungsvermögen der Zellulose zwischen den Werten 1·460 und 1·650 liegt, so muß in einer dieser Flüssigkeiten die Stäbchendoppelbrechung, die sich der Eigendoppelbrechung der Zellulose überlagert, nahezu ausgeschaltet werden. Bis zu derjenigen Imbibitionsflüssigkeit, in der dies geschieht, muß also zunächst eine Erniedrigung in der Stärke der Doppelbrechung bis zu einem bestimmten Grenzwert stattfinden, und von da ab müßte dann wieder mit größer werdender Differenz der Brechungsexponenten eine Erhöhung eintreten. Die bisher angestellten Versuche ließen mit Sicherheit erkennen, daß in der Tat ein solcher Verlauf in der Stärke der Doppelbrechung zu beobachten ist. Macht man diese Versuche mit keilförmig geschnittenen Stücken, so kann man bequem an der Zahl der jeweils auftretenden Farbenordnungen die Stärke der Doppelbrechung beurteilen. Es ergibt sich dabei, daß in den Flüssigkeiten, deren Brechungsexponenten in der Nähe desjenigen des Benzylalkohols liegen, die Doppelbrechung am schwächsten wird, daß sie

aber auch hier noch ziemlich stark ist und stets das positive Vorzeichen besitzt. Dieses Verhalten berechtigt demnach zu der Schlußfolgerung, daß den Zelluloseteilchen selbst ebenfalls eine Eigendoppelbrechung zukommt, die aber für alle Farben dasselbe Vorzeichen besitzt und außerdem beträchtlich stärker, als die der Zelloïdinteilchen ist. Dieses Resultat ist, wie man sieht, von prinzipieller Bedeutung; denn es spricht ganz entschieden für die Richtigkeit der Nägelischen Micellarhypothese, nach der den Micellen selbst eine optische Anisotropie zugeschrieben werden muß.

Von einigem Interesse war noch zu prüfen, wie die denitrierten Streifen sich bei Färbungen verhielten. Wie zu erwarten war, ergab sich bei der Färbung mit Chlorzinkjodlösung derselbe außerordentlich starke Dichroismus, der für die mit dem gleichen Reagens behandelten Zellulosemembranen der Pflanzenzellen charakteristisch ist. Auch bei Färbungen mit Kongorot und einigen anderen Farbstoffen zeigte sich eine große Verschiedenheit der Absorption in verschiedenen Richtungen.

Es lag nun die Frage nahe, ob die Gelatine, die sich erfahrungsgemäß ebenfalls mit verschiedenen Flüssigkeiten imbibieren läßt, nach beträchtlichen Deformationen auch eine verschieden starke Doppelbrechung je nach dem Brechungsvermögen der Imbibitionsflüssigkeit zeige, und besonders ob auch in diesem Falle ein deutliches Zusammenwirken von Stäbchendoppelbrechung und Eigendoppelbrechung festgestellt werden könne. Nach längerem Herumprobieren, um die für diesen Zweck am meisten geeigneten Flüssigkeiten herauszufinden, ergab es sich, daß auch bei diesem Körper Alkohol, Benzylalkohol und Monobromnaphthalin am schnellsten und sichersten zum Ziele führten. Man kann ebenso wie bei den Versuchen am Zelloïdin auch hier eine nach dem Brechungsvermögen abgestufte Reihe von Mischungen herstellen, deren Exponenten zwischen 1·36 und 1·65 liegen. Außerdem kann man an fester Gelatinefolie, die sich am besten zu diesen Versuchen eignet, den Brechungsexponenten der lufttrockenen Gelatine leicht feststellen; er stimmt für die D-Linie fast mit dem des Benzylalkohols überein. Es war somit zu erwarten, daß bei Imbibition mit dieser Flüssigkeit die Wirkung der Stäbchendoppelbrechung ausgeschaltet werden könne, wenn die Gelatinestreifen unter diesen Umständen eine genügend starke Deformation zulassen.

Legt man zunächst die Gelatinestreifen in etwa 80prozentigen Alkohol, so quellen sie nach einiger Zeit in beschränktem Maße und

können in diesem Zustande in einem kleinen, früher schon von mir beschriebenen Dehnungsapparate[1] leicht um 100 Prozent ihrer ursprünglichen Länge deformiert werden. Sie zeigen dann, wie dies aus früheren Untersuchungen schon hinreichend bekannt ist, eine ziemlich starke, in bezug auf die Dehnungsrichtung positive Doppelbrechung. Um das allmähliche Verdrängen der ersten Imbibierungsflüssigkeit zu erleichtern, ist es gut, wenn man gleich anfangs ein wenig Benzylalkohol zusetzt. Steigert man nun den Brechungsexponenten durch weiteren Zusatz von Benzylalkohol immer mehr, so wird die Stärke der Doppelbrechung immer geringer, behält aber für alle Farben stets dasselbe Vorzeichen. Ist man schließlich bei Benzylalkohol mit einem ganz geringen Zusatz von Monobromnaphthalin angelangt, so wird die Doppelbrechung am schwächsten, aber auch jetzt ist sie noch für alle Farben positiv. Die Streifen zeigen zwischen gekreuzten Nicols als Interferenzfarbe ein mattes Grau, aber niemals lebhafte Farbtöne, die etwa darauf schließen ließen, daß für eine Farbe Isotropie eingetreten sei. Wird noch mehr Monobromnaphthalin zugesetzt, so steigt jetzt die Differenz der Brechungsexponenten von Imbibitionsflüssigkeit und Gelatine, so daß nunmehr die die Eigendoppelbrechung der Gelatine überlagernde Stäbchendoppelbrechung stärker hervorzutreten vermag. Die Interferenzfarbe ist jetzt ein helleres Grau, und sie steigt schließlich bei Verwendung von reinem Monobromnaphthalin bis zum Weiß I. Ordnung. Denselben Verlauf in der Änderung der Doppelbrechung kann man auch in umgekehrter Reihenfolge beobachten, wenn man allmählich wieder das Monobromnaphthalin durch Benzylalkohol und diesen durch den gewöhnlichen Alkohol ersetzt. Die Gelatine verhält sich demnach ganz ähnlich wie die zu Zellulose denitrierten Zelloïdinstreifen, nur ist die *Eigendoppelbrechung bei der Gelatine beträchtlich schwächer als bei der Zellulose.*

* * *

Auf Grund der bisherigen Versuchsergebnisse kann man, wie ich glaube, mit Sicherheit die Einwirkung der Stäbchendoppelbrechung bei dem optischen Verhalten der untersuchten Körper beurteilen. *Daß in allen diesen Fällen bei Verschiedenheit der Brechungsexponenten beider Komponenten des Sy-*

---

[1]) Anleitung zur Benutzung des Polarisationsmikroskopes, Leipzig 1892, p. 12.

stems eine mehr oder minder starke Stäbchendoppelbrechung neben der Eigendoppelbrechung der einen Komponente nachzuweisen ist, unterliegt wohl keinem Zweifel. Dadurch wird es aber sehr wahrscheinlich gemacht, daß auch bei den anisotropen Membranen des Pflanzen- und Tierkörpers eine Stäbchendoppelbrechung die Eigendoppelbrechung überlagert, wenn die Brechungsexponenten der Imbibitionsflüssigkeit und der Grundsubstanz verschieden sind. Bisher hat man eine solche Einwirkung der Differenz des Brechungsvermögens noch nicht mit voller Sicherheit nachweisen können. Man muß aber berücksichtigen, daß in den meisten Fällen der mikroskopischen Beobachtung an sehr dünnen Schnitten, die zudem in Einschlußmedien liegen, deren Brechungsexponenten nicht sehr stark von denen der Membranen abweichen, die etwa auftretende Stäbchendoppelbrechung sich nur wenig bemerkbar machen wird. Es ist aber sicher zu erwarten, daß bei weiteren und besonders bei genaueren quantitativen Untersuchungen nach dieser Richtung sich eine Mitwirkung der Stäbchendoppelbrechung an der resultierenden Gesamtdoppelbrechung nachweisen lassen wird. Damit würden dann die in der Einleitung erwähnten Behauptungen W. Hofmeisters und anderer Forscher über die Wirkung der „Gitterpolarisation“ auf das richtige Maß zurückgeführt werden.

Jena, 27. Juni 1915.

[Eingegangen am 29. Juni 1915.]

Zur Objektbeleuchtung für die Mikrophotographie mit kurzbrennweitigen photographischen Objektiven.

Von

Prof. Dr. W. Scheffer
in Berlin - Wilmersdorf.

Hierzu sechs Textabbildungen.

Bei der Mikrophotographie und der Mikroprojektion mit kleinen photographischen Objektiven bei geringer Vergrößerung, bis etwa 50fach, ist der Strahlengang im Grund derselbe, wie bei der Makroprojektion gewöhnlicher photographischer Diapositive, der photographischen Vergrößerung und ähnlichen Verfahren. Die Lichtquelle wird von einem Kondensor in der Eintrittspupille des abbildenden Objektives abgebildet und dies bildet seinerseits die Austrittspupille des Kondensors und das auf ihr liegende Diapositiv oder Präparat ab.

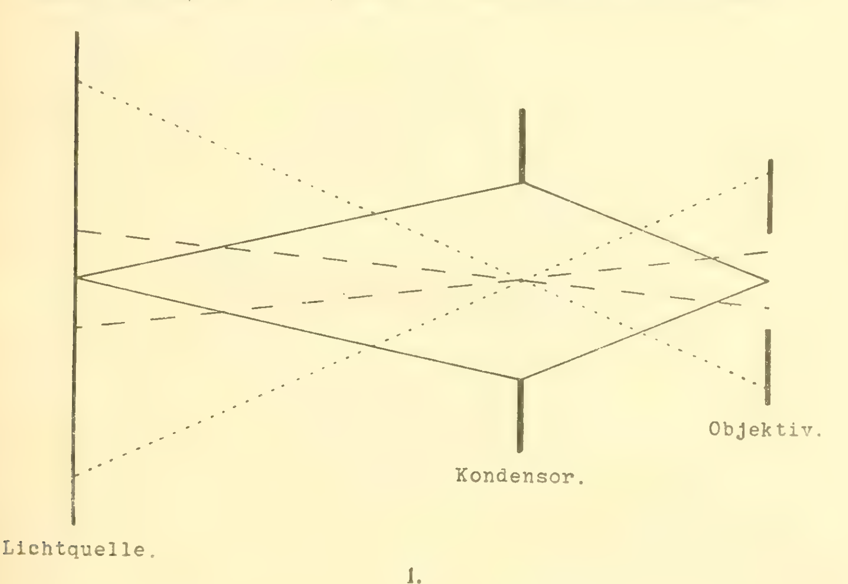
Den Strahlengang hierbei zeigt schematisch Figur 1.

Kondensor und Objektiv sind durch Blendenöffnungen angedeutet, die zugleich für die — zusammenfallend gedachten — Ein- und Austrittspupille stehen. Die Lichtquelle sei eine beliebig große gleichmäßig strahlende Milchglasscheibe, vor der eine Irisblende steht. Das Objekt, in der Figur ebenso wie die Irisblende nicht angedeutet, liegt auf dem Kondensor.

Der ausgezogene Strahlengang zeigt die Abbildung eines Punktes der Lichtquelle im Objektiv, die beiden anderen, der gestrichelte und der punktierte deuten in zwei Fällen die Größe des Lichtquellenbildes im Objektiv an. Sie zeigen zugleich die Öffnung des den Objektpunkt beleuchtenden Büschels. Wenn man einen Objektpunkt in durchfallendem Licht projizieren will und die Iris vor der Lichtquelle immer weiter öffnet, dann kommt man zu einer Irisöffnung, bei der eben gerade die ganze Öffnung des Objektives mit direktem Licht erfüllt ist.

Wenn man die Iris weiter öffnet, geht der äußere Teil des Kegels am Objektiv vorbei. Er erzeugt Dunkelfeldbeleuchtung und

diese wirkt, besonders bei ungefärbten Objekten, sehr störend, da sie ein in seinen Helligkeitsabstufungen ungefähr entgegengesetztes Bild gibt, wie die Beleuchtung mit durchfallendem Licht. Wenn man ungefärbte Objekte von sehr zarter Struktur hat, ist es oft von der größten Wichtigkeit für die Güte der Abbildung, daß man sehr sorgfältig durch Versuche feststellt, welche Öffnung des beleuchtenden Kegels das beste Bild gibt. Man kommt dann oft dazu, nur einen Teil des Objektives mit direktem Licht, also dem Büschel der primären Maxima, zu erfüllen, und den Maximis höherer Ordnung, die

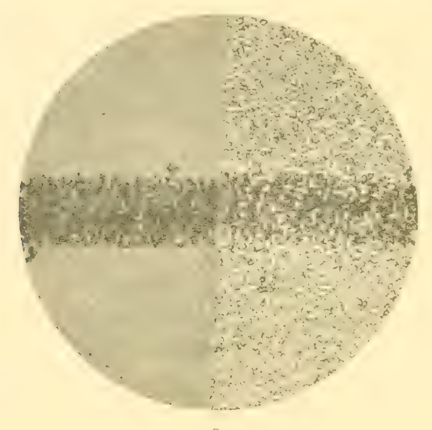


1.

von dem vornehmlich durch Beugung sichtbar werdenden ungefärbten Objekt ausgehen, eine bessere Gelegenheit zur merklichen Wirkung zu geben. Das geschieht, wenn man nur einen — meist den mittleren — Teil der Objektivöffnung mit direktem Licht erfüllt. In der Praxis kann man auf folgende Weise verfahren. In etwa 20 bis 30 cm Abstand vom Kondensor stellt man eine vollkommen streuende Matt- oder Milchglasscheibe auf. Hinter dieser (in der Fortpflanzungsrichtung des Lichtes gemeint) steht eine große Irisblende. An Stelle des Kondensors nach Abbe sitzt im Beleuchtungsapparat ein einfacher Kondensor von langer Brennweite, ein sogenannter Brillenglaskondensor, oder, nach Abnahme des Frontteiles, der untere Teil eines Kondensors nach Abbe. Durch Heben und Senken des Kondensors

— bei bereits scharf eingestelltem Bild — legt man das Lichtquellenbild in die Objektivöffnung und nun stellt man mit der großen Irisblende die passende Größe desselben im Objektiv und die richtige Öffnung der beleuchtenden Büschel her. Die Figur 2 zeigt recht deutlich den Unterschied bei richtiger und zu großer Öffnung der beleuchtenden Kegel. Als Objekt diente ein Bleistiftstrich auf einer feinen Mattscheibe. Man hat hier nebeneinander zwei Strukturen, eine vornehmlich durch Absorption, und eine vornehmlich durch Beugung sichtbare. Der Unterschied ist ohne weiteres sinnfällig.

Bei der linken Aufnahme war das Lichtquellenbild wesentlich größer, als die Pupille des Objektives, bei der rechten erfüllte das-



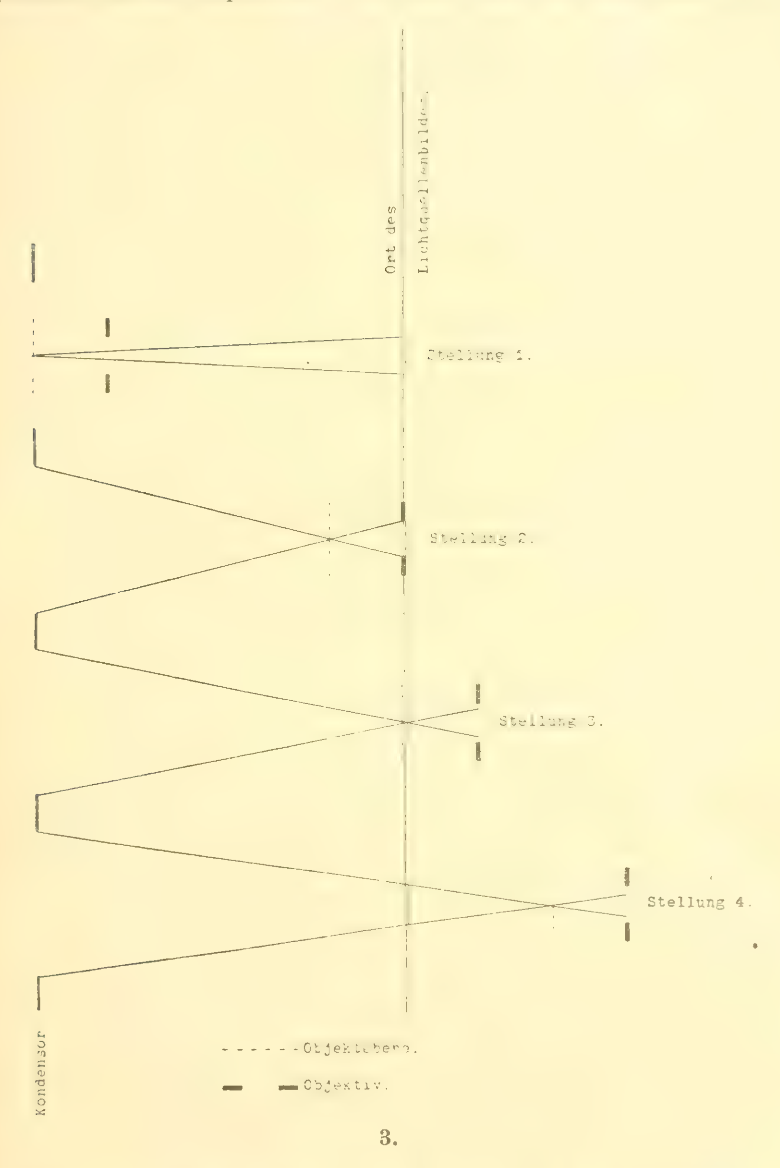
2.

selbe nur einen für den vorliegenden Fall passenden Teil der Objektivöffnung.

Wir haben zunächst, wie das ja auch im Idealfalle verwirklicht ist, angenommen, daß der Kondensor die Lichtquelle im Objektiv, und dies die Kondensoröffnung auf dem Schirm abbildet. Es ist selbstverständlich, daß in diesem Falle zu einer bestimmten Objektivbrennweite auch eine bestimmte Kondensorbrennweite gehört. Außerdem muß der Kondensor eine dem Bildwinkel des Objektives entsprechende Öffnung haben. Gelegentlich ist aber nicht die genau passende Kondensorbrennweite vorhanden und man muß sich mit einer größeren oder kleineren behelfen. Das hat Abweichungen vom idealen Strahlengang zur Folge, die hier etwas näher besprochen werden sollen.

Es kommt an: Auf die Brennweite und die numerische Apertur des Objektives und des Kondensors und den Ort des Lichtquellenbildes.

Der Einfluß der Größe des Lichtquellenbildes ist im vorhergehenden schon besprochen. Es bleibt also nur noch außer den



3.

Eigenschaften des Kondensors und des Objektives der Ort des Lichtquellenbildes näher zu besprechen. Eine weitere Vereinfachung ist

die Annahme, daß das Bild der Lichtquelle in der hinteren Brennebene des Kondensors liegt. Weiter soll der Abstand des Objektes vom Objektiv als fest, also auch ein bestimmter Abbildungsmaßstab angenommen werden.

Man kommt am einfachstem zum Ziel, wenn man nur eine Versuchsbedingung ändert und alles andere unverändert erhält.

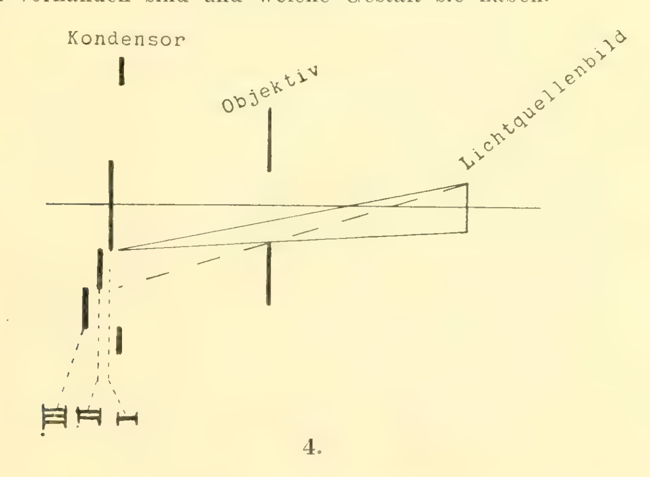
In den vier Fällen der Figur 3 wandern Objekt und Objektiv in der — immer von links nach rechts gedachten — Fortpflanzungsrichtung des Lichtes. Die Brennweite des Kondensors soll erheblich größer sein, als die des Objektives. Der umgekehrte Fall, daß die Brennweite des Kondensors erheblich kleiner ist, hat in der Praxis keine Bedeutung. Im vorliegenden Falle haben wir vier besonders ausgezeichnete Stellungen. In der Stellung 1 liegt die, punktiert angedeutete, Objektebene in der Austrittspupille des Kondensors. Für die Beleuchtung sowohl, wie für die Abbildung eines Objektpunktes kommen, geometrisch gesprochen, koaxiale Strahlenkegel gleicher Öffnung in Betracht, deren gemeinsame Spitze im Objektpunkt liegt. Ihre Öffnung und Gestalt ist je nach der betreffenden Anordnung durch richtiges Zusammenfassen der von der Kondensoröffnung zum Lichtquellenbild verlaufenden Strahlen zu bestimmen. Natürlich muß man auch die Beziehung der Objektivöffnung zu diesen Strahlen aus der Lage und Gestalt der Öffnung berücksichtigen. Im Idealfall, wenn die Objektivöffnung vollkommen vom Bild der Lichtquelle erfüllt ist und das Objekt auf der Kondensoröffnung liegt, schneidet die Objektivöffnung überhaupt nichts von dem kegelstumpfförmigen Raume ab, in dem die, vom Kondensor zum Lichtquellenbild gehende Strahlung verläuft. Die strahlenbegrenzende Öffnung ist also die Pupille des Objektives, oder was praktisch dasselbe ist, das Lichtquellenbild, die bildbegrenzende Öffnung ist im Objektraum die Öffnung (Pupille) des Kondensors. Das ist, wie oben gesagt, nur möglich, wenn der Kondensor gut zum Objektiv paßt.

In den vier Fällen der Figur 3 ist die Brennweite des Kondensors größer, als die Objektivbrennweite. Man muß also sowohl für die Büschel, die die Objektpunkte abbilden, wie auch für das Bildfeld, (das Büschel der zur Abbildung gelangenden Hauptstrahlen) durch eine besondere Konstruktion die betreffenden Verhältnisse klarlegen. Außerdem wird man noch die sogenannte „Vignettierung“ der Büschel seitlicher Objektpunkte berücksichtigen.

Wenn wir im Falle Stellung 1 das Lichtquellenbild durch den Objektpunkt in die Objektivöffnung projizieren, sehen wir, daß nur

ein Teil derselben mit direktem Licht erfüllt wird. Wir haben hier also eine der Abblendung des Objektives in gewissem Sinne ähnliche Erscheinung. Wir werden später sehen, daß zwischen der Abblendung im Objektiv und der Verkleinerung des Lichtquellenbildes in seiner Öffnung ein wesentlicher Unterschied besteht.

Die Ausdehnung des Sehfeldes ist ebenfalls leicht zu finden. Man konstruiert den kegelstumpfförmigen Raum, in dem Strahlen von der Kondensoröffnung zum Lichtquellenbild verlaufen, bringt Objekt und Objektiv an ihren Ort und untersucht, welche für die Abbildung der Objektpunkte durch das Objektiv überhaupt in Frage kommenden Büschel vorhanden sind und welche Gestalt sie haben.



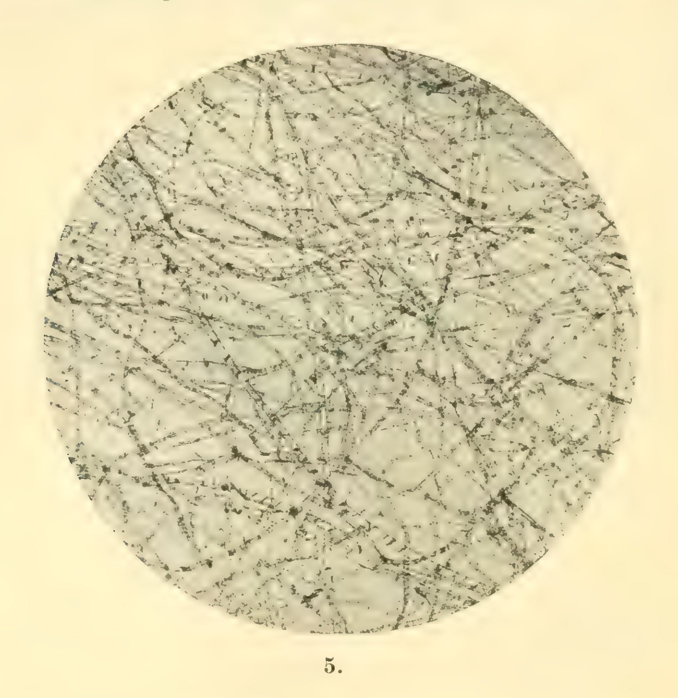
4.

Da die Stellung 1 sich besonders gut zur Darstellung der Sehfeldbegrenzung und auch der Vignettierung eignet, wurden diese Verhältnisse in Figur 4 übertrieben wiederholt. Der Übersichtlichkeit halber wurde Figur 3 durch diese Darstellung nicht unterbrochen.

In Figur 4 liegt, ebenso wie in Stellung 1 der Figur 3, das Objekt in der Kondensoröffnung. Der besseren Deutlichkeit halber ist die Objektivöffnung etwas größer und weiter weg vom Objekt und der Kondensoröffnung angenommen. Das Lichtquellenbild wurde etwas näher an das Objektiv herangerückt. Wenn wir durch das Lichtquellenbild als perspektivisches Zentrum die Objektivöffnung in die Kondensoröffnung projizieren, bekommen wir in der Einstellebene drei Gebiete, das zentrale Gebiet, I, das mit der maximalen, im vorliegenden Falle möglichen Öffnung beleuchtet, und, wenigstens was die primären Maxima angeht, auch abgebildet wird.

Das Gebiet II ist das der zunehmenden Vignettierung, und das Gebiet III der Kondensoröffnung wird überhaupt nicht mehr abgebildet. Der Einfachheit und Deutlichkeit halber wurde in Figur 4 die Konstruktion nur für die untere Hälfte der Abbildung ausgeführt. Für die anderen Stellungen ergibt sich aus dem Gesagten die Konstruktion des Sehfeldes und der Art seiner Abbildung ohne weiteres.

Daß man die im Anfang dieser Veröffentlichung als Fehlerquelle bei der Beleuchtung mit durchfallendem Licht erwähnte Dunkel-



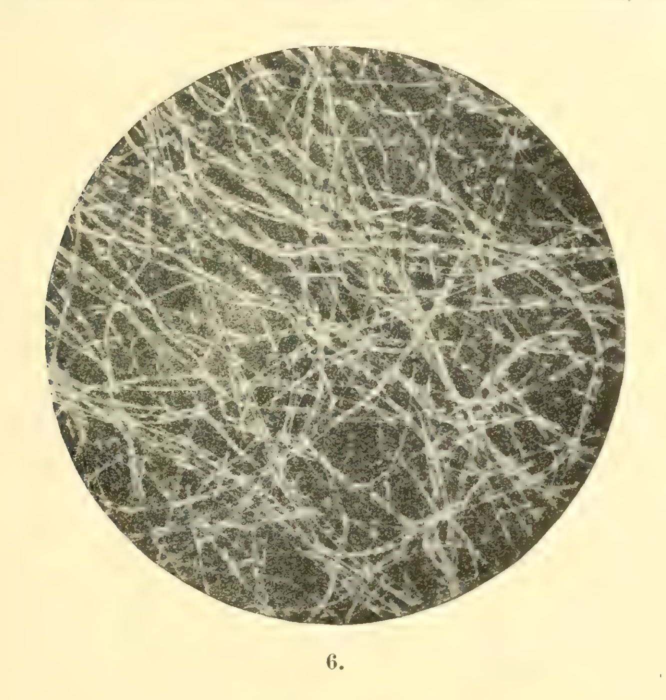
5.

feldbeleuchtung allein sehr wohl mit Vorteil auch bei der Mikrophotographie mit kurzbrennweitigen photographischen Objektiven anwenden kann, beweisen die Figuren 5 und 6. Figur 5 ist eine Aufnahme mit durchfallendem Licht, bei der die mittleren zwei Drittel des Objektives mit direktem Licht erfüllt waren, wie das für den vorliegenden Fall die günstigste Bildwirkung ergab. Figur 6 wurde mit Dunkelfeldbeleuchtung aufgenommen. Als Lichtquelle diente eine Mattscheibe, die von einer Auerlampe durch einen Kondensor hell erleuchtet wurde. In ihrer Mitte befand sich eine kleine kreisrunde Scheibe aus schwarzem Papier. Diese Mattscheibe wurde so im

Objektiv abgebildet, daß das Bild der schwarzen Scheibe eben gerade die Öffnung desselben bedeckte. Das Bild der Mattscheibe war natürlich wesentlich größer, als die Objektivöffnung. Den Erfolg dieser, auf die einfachste Weise mit gewöhnlichen Mitteln zusammengestellten Dunkelfeldbeleuchtung zeigt Figur 6.

Die beiden Figuren 5 und 6 stellen ein Stück Josephspapier dar, das in Kanadabalsam eingebettet war.

Derselbe Unterschied wie bei der Hellfeldbeleuchtung besteht



6.

auch beim Dunkelfeld zwischen der Beleuchtung für die eigentlichen Mikroskopobjektive mit hoher numerischer Apertur, bei denen das Sehfeld klein ist, verglichen mit der Objektivöffnung, und der Beleuchtung für Aufnahmen mit kleinen photographischen Objektiven von kurzer Brennweite, bei denen das Sehfeld groß ist, verglichen mit der Objektivöffnung. Im ersteren Falle entwirft der Kondensor ein Bild der Lichtquelle in der Objektebene (Einstellebene des Objektives). Die Pupillen des Kondensors und des Objektives sind einander als Objekt und Bild zugeordnet und stehen miteinander im Wettstreit. Man muß also hier die Abblendung für Dunkelfeld in

der Pupille des Kondensors anordnen. Bei den kurzbrennweitigen photographischen Objektiven liegt das Bild der Lichtquelle im abbildenden Objektiv und es steht mit dessen Pupille im Wettstreit. Die Abblendung für Dunkelfeld muß also in der Lichtquelle selbst oder in einem Zwischenbild derselben ausgeführt werden.

Aus dem hier Ausgeführten geht auch hervor, daß die Bedingungen, die die Kondensoren für die beiden Arten der Abbildung, sowohl mit Mikroskop, wie auch photographischen Objektiven zu erfüllen haben, einander viel ähnlicher sind, als die Konstruktionsbedingungen der Objektive.

[Eingegangen am 16. April 1915.]

Der Arbeitsraum des Mikroskopikers.

Von

G. C. van Walsem
in Meerenberg, Holland.

Hierzu vier Textabbildungen.

Die Veranlassung zu der Abfassung dieses Aufsatzes ist in erster Linie der Umstand, daß der betreffende Gegenstand, wenigstens in der periodischen Literatur, recht stiefmütterlich behandelt worden ist. So habe ich in den dreißig Bänden dieser Zeitschrift nur zwei Stellen[1] ausfindig machen können, welche hierauf, und dazu nur auf untergeordnete Teile, Bezug nehmen. Vor drei Jahren war ich in die Gelegenheit gesetzt worden, ein Privat-Arbeitszimmer für mikroskopische Arbeiten in der hiesigen Anstalt für mich einzurichten, und ich konnte dabei bestimmte Ideen verwirklichen, welche mir berechtigt erscheinen, einiges allgemeine und prinzipielle Interesse zu beanspruchen, weil sie bezwecken, den aus längerer Erfahrung mir klar gewordenen Bedürfnissen zu entsprechen, obwohl gleich dabei gern eingestanden sei, daß dies alles teilweise ein rein persönliches Gepräge haben mag. Als Leiter einer größeren Anstalt für Geisteskranke[2] kann ich mich selbstverständlich nur den kleinsten Teil des Tages der Laboratoriumarbeit widmen, und darum mußte ich bestrebt sein, alles möglichst so einzurichten, daß in erster Linie Bequemlichkeit und Handlichkeit ins Auge gefaßt wurden. Dabei mußte weiter

---

[1]) Pfeffer, W., Ein neuer heizbarer Objekttisch nebst Bemerkungen über einige Heizvorrichtungen (Diese Zeitschr. Bd. 7, p. 447).

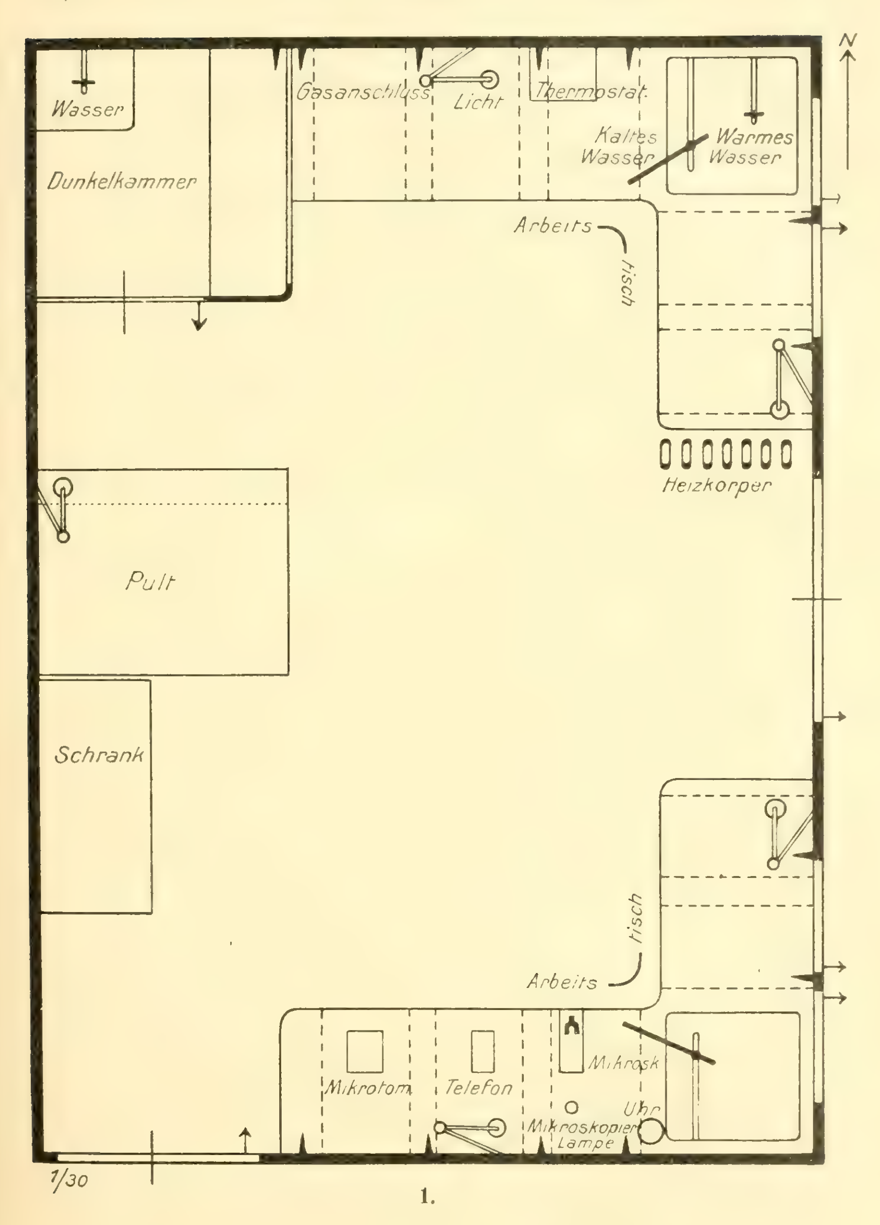
Wolff, M., Über ein neues kleines Minot-Mikrotom, das noch für feinste histologische und embryologische Arbeiten ausreicht, und über einen neuen Mikroskopiertisch (Diese Zeitschr. Bd. 24, p. 100).

[2]) Kürzlich ausführlich von mir beschrieben in dem Illustrationswerk: Heil- und Pflege-Anstalten für Psychisch-Kranke, Halle a. S. (C. Marhold) 1914, p. 192—212. Aus meiner besondern Stellung geht z. B. hervor, daß neben meinem Mikroskop mein teurer Fernsprechapparat steht, mittels welchem ich direkt mit 39 Stationen in der Anstalt, indirekt mit 24 weiteren Anstaltsstationen und mit der Außenwelt in Verbindung stehe.

alles sehr einfach gehalten werden, und jeder Luxus im engern Sinne des Wortes war zu vermeiden. Ich werde die Prinzipien, worauf ich oben anspielte, von selber, am sichersten und am vollständigsten näher berühren, wenn ich die Beschreibung meines jetzigen Arbeitsraums vorausschicke.

Dieser Beschreibung möge die nebenstehende Abbildung (Fig. 1) zugrunde gelegt werden. Mein Arbeitszimmer hat eine Breite von 4·5 m, eine Tiefe von 3·50 m und eine Höhe von 3·25 m. Eine der breiten Seiten wird fast vollständig von zwei Fenstern und einer Glastür, welche in einen kleinen Garten führt, eingenommen und ist nach Osten gewendet, so daß reichlicher Lichtzutritt stattfindet, und wenigstens in den Vormittagsstunden die Sonne direkt hereinscheinen kann. In einer der Ecken befindet sich die Dunkelkammer, ein einfach hölzerner Schrank, Breite 1 m, Tiefe 1·20 m, Höhe 2 m. An dem erübrigten Teil der nördlichen Wand und unter dem nördlichen Fenster befindet sich ein fest mit der Mauer verbundener Arbeitstisch. In der südwestlichen Ecke befindet sich eine Türe, durch welche das Zimmer von innen zu erreichen ist. An dem überschießenden Teil der südlichen Wand und unter dem südlichen Fenster befindet sich ebenfalls ein Arbeitstisch. Hart an der nach außen führenden Tür steht ein Zentralheizungskörper, gegen welchen der anliegende Tisch durch eine Asbest-Eisenplatte geschützt ist. An der westlichen Wand steht ein altertümliches Pult, woran ich stehend oder auf einem hohen Kontorstuhl sitzend meine Schreibereien machen und, wenn nötig, auch größere Zeichnungen anfertigen kann, und daneben ein geräumiger Schrank. Der Boden besteht aus gestampftem Beton, auch die Wände und die Decke sind zementiert und gestrichen.

Nach dieser Aufzählung auf einige Besonderheiten näher eingehend, möchte ich in erster Linie die Aufmerksamkeit auf den Arbeitstisch lenken. Die diesbezüglichen Ausführungen Wolffs (l. c.) beziehen sich auf transportable Tische. Dessen Urteil über die Einrichtung der käuflichen Apparate ist nicht günstig. Seinen Ansichten kann ich in verschiedenen Punkten beistimmen (Trennung zwischen Aufbewahrungsort und Arbeitstisch und zwischen diesem und dem Platz für gröbere Präparationen), in anderen weiche ich, wenigstens für feststehende Tische, wie aus dem Nachstehenden ersichtlich, davon ab. Mein Tisch ist in dem Mauerwerk der Wand befestigt und wird durch daran befestigte kräftige Eisengestelle getragen. Es fehlen also die Tischbeine, so daß man mit den Knien nirgendwo anstoßen kann. Die Höhe beträgt 86 cm, und der Tisch hat in seiner



1.

ganzen Länge Schubladen, welche aber nach unten nur bis zu 73 cm vom Fußboden entfernt sind. Die Höhe ist verhältnismäßig groß, dies hat aber den Vorteil, daß man stehend den Tisch bequemer be-

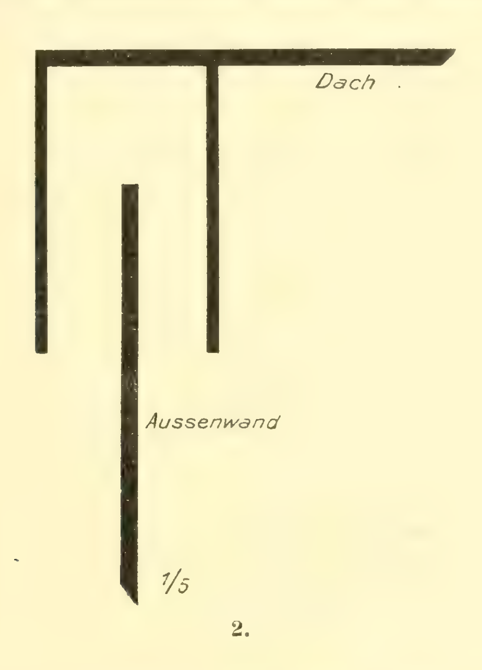
nutzen kann und daß man sitzend mit den eigenen Beinen freier ist. Der Stuhlsitz muß selbstredend auch ein verhältnismäßig hoher sein und ist 58 cm. Ein an dem Stuhl befestigtes Lederkissen, worauf man sitzend sich nach Bedürfnis leicht verschiebt, ohne dabei den nötigen Halt zu verlieren — ich ziehe diese Vorrichtung dem Drehstuhl vor —, läßt dies in bequemster Weise erreichen. Die Breite des Tisches ist 60 cm. Man muß sitzend vor dem Tisch diesen mit den Armen leicht überspannen können, und man muß daraus keinen Ablagerungsplatz, wenigstens nicht mehr als höchstens einen streng provisorischen machen. An der Außenseite des Tisches befinden sich eine große Zahl Gasanschlüsse. Die dazu gehörigen Hähne befinden sich aber an dem freien Rand und sind also gleich zur Hand. Wie gesagt, sind zwei Tische da. Der eine wird ausschließlich für gröbere Präparationen, kleinere chemische Arbeiten usw. benutzt, der andere ist der eigentliche Mikroskopiertisch. Dieser besteht aus einem Stück dem Fenster gegenüber (Länge des freien Randes 100 cm) und aus einem Stück senkrecht zur Fensterfläche stehend (Länge des freien Randes 150 cm). Der erstgenannte Teil ist ausschließlich für die Bearbeitung der mikroskopischen Präparate bestimmt. Der Stuhl befindet sich in der Ecke, welche von den zwei Teilen des Tisches gebildet wird, so daß man nach der Präparation durch eine einfache Drehung sich gleich in der rechten Stellung dem Mikroskop gegenüber befindet. Wo die zwei Teile des Tisches aneinander stoßen, ist ein geräumiger Spülraum angebracht, in den an dem Tisch für größere Präparationen auch die Warmwasserleitung führt. Der Kaltwasserhahn ist, wie in chirurgischen Operationszimmern üblich, mit dem einfachsten Strahlbrecher eventuell einem etwa 7 cm langen Kautschukschlauche, der noch die Vorteile hat, daß man bequem den Strahl richten kann und daß man nie mit der Hand hart anstoßen kann, und mit einem langen Hebel versehen, wodurch der Hahn leicht mit einer (hier mit der rechten) Hand geöffnet werden kann, wobei diese Hand zudem nicht frei zu sein braucht, sondern etwa ein Uhrglas, einen Objektträger oder sonstiges halten kann. Eine besondere Beachtung verdient die Stellung des Mikroskopes. An dem freien Rand des Tisches ist nämlich ein Einschnitt gemacht worden, Breite 10 cm, Tiefe 25 cm, oben mit schräg nach unten zugespitztem Rand. In diesem Einschnitt befindet sich das Mikroskop, wobei es auf dem Boden der Schublade steht, und zwar darauf durch kleine seitlich angebrachte Nägel fixiert ist. Der Boden der Lade befindet sich 11 cm unterhalb der Oberfläche des Tisches. Das Mikroskop ist bei Be-

wegung der Lade, also tatsächlich nur in einer Richtung, und zwar senkrecht zu dem freien Rand von dem Teile des Tisches, verschiebbar. Der Mikroskoptisch befindet sich noch etwas oberhalb der Oberfläche des Arbeitstisches, wodurch das Auflegen von Objektträgern frei bleibt und ebenfalls die Schrauben des beweglichen Objekttisches. Selten habe ich an einer einfachen Vorrichtung soviel Freude erlebt, wie an dieser. Mehr und mehr bin ich zu der Überzeugung gelangt, daß das Aufstellen des Mikroskopes auf den Arbeitstisch im Grunde doch widersinnig ist, wenn man nicht gezwungen sein will, bei jedem Blick durch das Mikroskop entweder auf einem höheren Sitz Platz zu nehmen oder in eine unbequeme Lage sich zu versetzen. Für Leute mit einer ungewöhnlich großen Körperlänge mag dies von geringerer Bedeutung sein, da diese den Unterschied in der Höhenlage des Auges bei der Anfertigung des Präparates und bei der Betrachtung durch das Mikroskop leichter durch eine Änderung in dem Grad der Rückenkrümmung ausgleichen können. Ich habe mich indessen überzeugt, daß auch längere Personen die beschriebene Vorrichtung zu schätzen wissen, während sie bei Personen mittlerer Statur — und mit Rücksicht hierauf sind alle oben angegebenen Maße festgesetzt worden — einem wirklichen Bedürfnis entspricht. Die Beschwerde ist natürlich schon von dem ersten Mikroskopiker, den es überhaupt auf der Welt gab, bemerkt worden, und deshalb hat man die Stative umlegbar gemacht, eine Einrichtung, welche sich jetzt wohl an allen, nicht ganz kleinen, Apparaten findet. Diese versagt aber, wenn man feuchte Präparate untersucht, wobei in der nicht horizontalen Lage entweder das Ganze oder Teile davon sich in Bewegung setzen. Bei der beschriebenen Stellung des Mikroskopes ist dies nicht der Fall, und ist die Betrachtung von trockenen Präparaten wenigstens so bequem wie bei umgelegtem Mikroskop, weil zudem die Arme auf den anstoßenden Teilen des Tisches eine ganz angenehme Stütze finden. Die Umlegeeinrichtung verwende ich denn auch seit Jahren nicht mehr. Kleinere, eventuell erwünschte Änderungen in der Höhenlage der Frontlinie des Okulares lassen sich durch Änderung in der Länge des Tubus herbeiführen. Die beschriebene Einrichtung hat auch bei der Anfertigung von Zeichnungen Vorteile, da hierbei der Arm in normaler Lage auf dem Tisch ruhen kann. Dem Mikroskop gegenüber steht die Mikroskopierlampe, ebenfalls an fester Stelle, jedenfalls auch in derselben Richtung wie das Mikroskop bei Bewegung der Lade zu verschieben. Die Vorteile des ausschließlichen Gebrauches der Lampe als Lichtquelle — genügende

Stärke, bzw. Regulierbarkeit derselben, Gleichmäßigkeit der Qualität und der Intensität des Lichtes sind für mich — und sind im allgemeinen meines Erachtens — so ausschlaggebend, daß, zudem wo bei elektrischer Beleuchtung durch Ein- und Ausschaltung, bei Auer-Licht durch Verwendung eines Dauerbrenners, der Kostenpunkt außer Betracht bleiben kann, ich seit Jahren vom Tageslicht Abstand genommen habe. Links von dem Mikroskop steht die Uhr, nicht nur zur anhaltenden Belehrung: Singulas horas singulas vitas puta, sondern in erster Linie zur bequemen Kontrollierung der Einwirkungszeit der verschiedenen Reagentien und Farbstoffe. Um dies zu erleichtern habe ich auf den Tisch links vom Mikroskop ein Zifferblatt gezeichnet. Beim Beginn der Einwirkung bezeichne ich auf dem Zifferblatt den augenblicklichen Stand des Uhrzeigers — des großen Zeigers, wenn es sich um Minuten, des Sekundenzeigers, wenn es sich um Sekunden handelt —, und zwar dadurch, daß ich an der Stelle des Zifferblattes eine feine Nadel in den Tisch stecke, wo die Operation abgelaufen ist. Das Mikrotom mit den zugehörigen Utensilien findet an dem anderen Ende dieses Teiles des Tisches Aufstellung. Was die Bedeckung des Tisches betrifft, so bin ich zum Holz, und zwar ohne dieses irgendeiner Bearbeitung zu unterziehen, zurückgekehrt. Also kein Marmor, kein Glas, kein Anstrich, keine Beize. Wenn man nicht zu breite Bretter wählt, wenn das zu verwendende Holz nicht zu hart ist (das gewöhnliche Föhrenholz genügt vollständig) und gehörig trocken ist, sind Formveränderungen sowie Bildung von klaffenden Nähten nicht zu befürchten. Die Vorteile sind Einfachheit und Billigkeit, Elastizität, namentlich den Glasgeräten gegenüber zu schätzen, und angenehme helle Farbe; es ist leicht zu reinigen. Daß hie und da ein Farbstofftropfen sich verirrt, mag vorkommen, ist aber, wenn infektiöses Material ausgeschlossen ist, in mäßigem Grade eher eine Zierde, und wenn nach Jahren die Sache zu schlimm wird, läßt sich durch einfaches Abkratzen wieder ein vollkommen zufriedenstellender Zustand herstellen.

Weiter möchte ich um einiges Interesse für meine Dunkelkammer bitten. Diese ist so einfach wie möglich eingerichtet, wurde indessen komplizierteren, früher von mir benutzten Einrichtungen gegenüber von mir bevorzugt. Wie schon angegeben, ist der Raum möglichst klein, bietet indessen in völlig genügendem Maße, was man wünschen kann. Das Brett, worauf die Entwicklung usw. stattfindet, befindet sich auf einer Höhe von 1·05 m, so daß man stehend ebenso bequem arbeitet wie auf einem hohen Kontorstuhl sitzend. 10 cm

oberhalb dieses Brettes befindet sich eine Scheibe aus rotem Glas, 40 × 80 cm. Am Tage gibt die Scheibe, welche ja dem Fenster zugewendet ist, ein vorzügliches Licht, abends erhält man dasselbe gleichfalls von einer auf dem Arbeitstisch, also außerhalb des Dunkelzimmers, aufgestellten Lampe, (keine Hitze, keine Verbrennungsgase!) Im Dunkelzimmer befindet sich auch eine Lampe, diese benutze ich aber ausschließlich bei der Anfertigung von Kopien auf Entwicklungspapier, wie es für wissenschaftliche Zwecke heute wohl ausschließlich

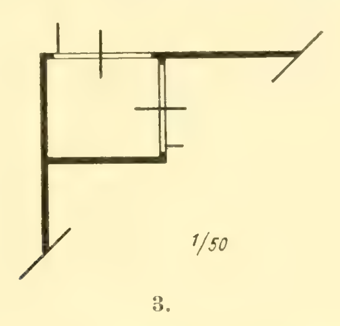


2.

Verwendung findet. Oberhalb dieser Lampe befindet sich ein Blechrohr, wodurch die Ventilation gefördert wird, und die Abfuhr von Verbrennungsprodukten stattfindet. Zur weiteren Förderung der Ventilation ist die Decke nicht an allen Stellen fest mit den Wänden verbunden, sondern mittels eines „lichtdichten Verschlusses“, dessen Besonderheiten aus der Figur 2 ersichtlich sind. Nicht selten stellt man an die Dunkelkammer die Anforderung, daß man dieselbe verlassen und wieder betreten kann, ohne daß etwa in Behandlung sich befindendes lichtempfindliches Material dabei zu Schaden komme. Aus eigener Erfahrung kenne ich zwei Einrichtungen, welche zu diesem Zwecke ersonnen sind, und welche ich als „Schleusen-

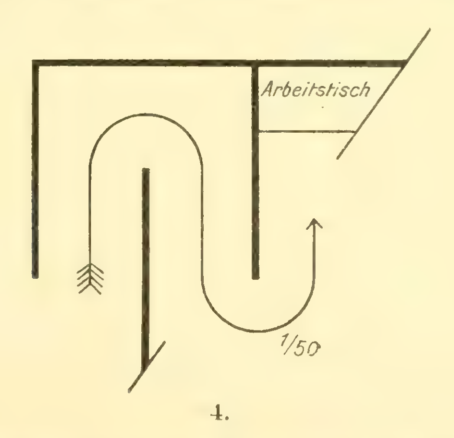
system“ und als „Kulissensystem“ bezeichnen möchte. Die Einrichtung bei dem Schleusensystem ist aus der Figur 3 ersichtlich. In einer Ecke der dadurch notwendigerweise ziemlich groß sich gestaltenden Dunkelkammer befindet sich ein quadratischer Raum mit zwei Türen. Die eine führt nach außen, die andere in den eigentlichen Raum der Dunkelkammer. Bei dieser Einrichtung sind als Nachteile zu erwähnen, daß man stets sorgfältig auf die Schließung der Türe zu achten hat, was, namentlich wenn man etwas in den Händen hat, seine Unannehmlichkeiten hat. Zudem finden Ventilation und Heizung von dem eigentlichen Hauptraum aus nicht statt. Diese Nachteile fehlen bei dem Kulissensystem (Fig. 4). Diese Einrichtung ist tatsächlich sehr praktisch und namentlich bei der Benutzung der Dunkelkammer von mehreren Personen zu gleicher Zeit fast unentbehrlich. Ein Nachteil bleibt aber, daß der nötige Raum verhältnismäßig groß ist. Wenn die Schirme gehörig mattschwarz angestrichen sind, kann man mit den allerempfindlichsten Platten ruhig arbeiten. Bei einer Dunkelkammer, die ausschließlich dem persönlichen Gebrauche dient, ist dies aber entbehrlich und läßt sich vollkommen ersetzen durch Schubladen, worin man zeitweilig das empfindliche Material, etwa Küvetten mit in Entwicklung begriffenen Platten, aufbewahrt. Die Schubladen und die nächste Umgebung müssen aber gut mattschwarz angestrichen sein, und es ist auch sehr zu empfehlen, zwischen der vorderen Seite der Lade und dem vorderen Rand des Brettes, unter welchem die Lade sich befindet, einen lichtdichten Verschluß anzubringen. Bei dieser Einrichtung befindet sich lichtempfindliches Material in der Schublade in vollkommener Sicherheit, und man kann auch während der Dauer der Entwicklung usw. die Kammer verlassen. Mit dem guten lichtdichten Verschluß der Schubladen hängen noch zwei andere Besonderheiten zusammen, auf welche ich etwas näher eingehen möchte. Die meisten Dunkelkammern sind im Innern mattschwarz angestrichen. Ich halte dies nicht nur für vollständig überflüssig, sondern prinzipiell für verfehlt. Die hier beschriebene Kammer ist innen hellrosa angestrichen und scheint bei rotem Licht hell. Weil durch die rote Scheibe ausschließlich inaktive Strahlen Zutritt haben, und an deren Wellenlänge durch die Reflektierung nichts geändert werden kann, erreicht man durch den hellrosa Anstrich, daß man bis in alle Ecken des Raumes ein sehr angenehmes diffuses Licht hat. Nirgendwo braucht man im Dunkeln herumzutasten. Ein zweiter Vorteil des guten lichtdichten Verschlusses der Schubladen besteht darin, daß man die Türe immer ruhig offen lassen kann, wodurch der betreffende Raum gehörig

ventiliert und geheizt werden kann und der Feuchtigkeit entgegengearbeitet wird. Das Wasser in der Form der atmosphärischen Feuchtigkeit scheint mir für die empfindlichen Platten und namentlich für die Papiere keine geringere Gefahr als das Licht.



3.

Auch der Fußboden in dem Laboratorium verdient besondere Beachtung. Dieser besteht hier, wie gesagt, aus einer gehörig dicken Schicht von gestampftem Beton. Auch die Wände und die Dielen sind zementiert und gestrichen. Der beschriebene Fußboden hat die



4.

Vorteile, daß eine Übertragung von Bewegungen dabei nicht stattfindet, das Auftreten ein angenehmes ist, die Farbe hell, Reparaturen ausgeschlossen sind, daß keine Nähte existieren, daß man vollkommen unabhängig von der Bodenfeuchtigkeit und sonstigen Ausdünstungen ist und schließlich, daß er sehr staubfrei ist. Der Einwand, daß man am Ende doch „auf Stein sitzt", wird bei guter, namentlich zentraler Heizung hinfällig und nur ein Voreingenommener und Unerfahrener

könnte dies ins Gewicht ziehen. Legt man aber noch an die Stelle, wo man am meisten sitzt oder steht, eine Kokosmatte hin, welche, dies sei hier noch bemerkt, ein vorzüglicher Staubfänger für alles, was von den Stiefeln herrührt, so ist auch dem Verwöhntesten genügt.

Die Fenster öffnen sich in ihren unteren Teilen nach außen, während die oberen Teile an deren unterem Rande drehbar und durch eine einfache Vorrichtung in jeder Lage fixierbar und mit Seitenschirmen versehen sind. Die Ventilation ist also in einem sehr weiten Spielraum und dazu in feinster Abstufung möglich. Auch oberhalb der Türe, die zum größten Teil aus Glas besteht, befindet sich eine ähnliche Vorrichtung.

Der Radiator steht hart an der Türe, damit die kalte Außenluft, bevor sie in das Arbeitszimmer tritt, erwärmt wird. Die zur Genüge bekannten, kaum hoch genug zu schätzenden Vorteile und Annehmlichkeiten der Zentralheizung (sofortige Ein- und Ausschaltung, feine Regulierbarkeit, kein Staub, keine Kontrolle) machen sich gerade in einem Laboratorium bemerkbar.

Die Türe führt in einen kleinen Garten. Im Sommer arbeitet man bei offener Türe sozusagen als „Freilüftler“; bei der Handhabung feuergefährlicher oder stark riechender Substanzen steht einem stets die „Flucht in die Öffentlichkeit“ zur Verfügung. Abfallstoffe finden hier die regelmäßigste Hinausbeförderung. Türe und Fenster haben gewöhnliches Glas. Ich erwähne dies hier nur deshalb, weil ich hie und da noch Mattglas gefunden habe. Mattglas sollte sich in keiner modernen Fabrik oder Schule, geschweige in einem Laboratorium finden. Auch bei der intensivsten Konzentration soll der freie Blick nach außen gewährt bleiben, und hat man am Ende sich gegen unbescheidene Blicke zu schützen, dann möchte ich besonders empfehlen — ich habe hierüber eine sehr ausgedehnte Erfahrung — die Verwendung von vor das Fenster gestellter feiner Metallgaze, an der Außenseite weiß, an der Innenseite mattschwarz gestrichen. Der Effekt ist wunderbar. Während man sich gegen jeden Einblick endgültig verwahrt, nimmt man von innen eine nur bei genauerem Hinblicken bemerkbare Verschleierung wahr. Und so wenig ich angesichts der großen Vorteile der Zentralheizung im Laboratorium Platz einräumen möchte für eine poetische Versenkung in das Flammenspiel im Herde oder ähnliche atavistische Trümmer eines pyromanischen Prometheuskultes, so hoch schätze ich die Möglichkeit, daß dem anilinmüden Auge in verlorenen Augenblicken, im Sommer an den Anthochromen eines bescheidenen Blumenbeetes sich freuend, im Winter

wenigstens an dem Chlorophyll von Aucuba und Thuia, von Efeu und Stechpalme sich weidend, die krafterneuernde Berührung mit der Mutter Gaea vermittelt bleibt.

Zum Schluß noch ein Blick auf das Ganze. Alles ist einfach und in bescheidenen Dimensionen gehalten, ist aber etwas apartes, etwas eigenes. Für mich war der Bau eines zentral gelegenen besonderen Raumes wegen der exzentrischen Lage des zudem schon stark in Angriff genommenen großen Anstaltslaboratoriums erwünscht. Ich möchte diesem aber auch eine allgemeine Bedeutung beimessen. Für jeden, der zu einer gewissen Selbständigkeit gelangt ist, halte ich einen besonderen Raum für erwünscht. Selbstverständlich brauchen kostspielige Instrumente usw. nicht in mehrfachen Exemplaren vorhanden zu sein, übrigens aber soll der Arbeiter sich isolieren können. Die embryonalen Arbeitsprodukte sind nur für das eigene Auge bestimmt und Verfehlungen, Fehler meinetwegen, brauchen nicht gleich jedem zu Gesicht zu kommen. Deshalb in den großen Laboratorien für den selbständigen Arbeiter kein besonderer „Arbeitstisch“, sondern eine eigene „Arbeitszelle“ und als in diesem Punkt echter Stirnerianer bekenne man sich hier zu der Devise: „Der Einzige und sein Eigentum.“

[Eingegangen am 6. März 1915.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Auerbach, F., Das Zeiss-Werk und die Carl Zeiss-Stiftung in Jena. 4., umgearbeitete u. vermehrte Aufl. Jena (G. Fischer) 1914. 200 pp. 149 Abb., 1 Bildnis von Ernst Abbe. 3 M.

Diese nunmehr 4. Auflage bietet dem interessierten Leser einen bedeutend gegen die vorige angewachsenen Stoff, sowohl textlich ein häufig etwas genaueres Eingehen auf technische Besonderheiten, als auch dementsprechend ein vermehrtes und verbessertes Abbildungsmaterial.

Es mag hier auch erwähnt sein, daß z. B. Entfernungsmesser und kriegstechnische Optik gewissermaßen zeitgemäß behandelt und erläutert werden, allerdings mit großer Reserve. In der Mikro-Abteilung finden wir eine Abbildung des großen mikrophotographischen Statives, die aus den Sonderdruckschriften des Zeiss-Werkes noch nicht bekannt war.

Ein wesentlicher Teil des Buches ist die Würdigung des sozialpolitischen Werkes und der Eigenart des Zeiss-Werkes. — Etwas knapp werden die glastechnischen und werkzeugtechnischen Seiten des Betriebes behandelt. Hier ist allerdings das schöne Werk von Zschimmer ergänzend vorhanden, jedoch wären genauere Beschreibungen optischer Glasverarbeitung doch angenehm.

Das Buch ist ein Kulturdokument und ein wertvoller Beitrag zur Aufklärung über Methoden und Technik der Forschung in unserer Industrie und unserer sozialen Entwicklung.

Dr. Wychgram (Kiel).

Allgemeine Biologie (Die Kultur der Gegenwart, herausgegeb. von P. Hinneberg. III. Teil, 4. Abt., Bd. 1). Redaktion: C. Chun u. W. Johannsen unter Mitwirkung von A. Günthart. Bearbeitet von E. Baur, P. Boysen-Jensen, P. Claussen, A. Fischel, E. Godlewski, M. Hartmann, W. Johannsen, E. Laqueur, B. Lidforss, W. Ostwald, O. Porsch, H. Przibram, E. Rádl, O. Rosenberg, W. Roux, W. Schleip, G. Senn, H. Spemann, O. zur Strassen. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1915. Geh. 21 M., geb. 23 M.

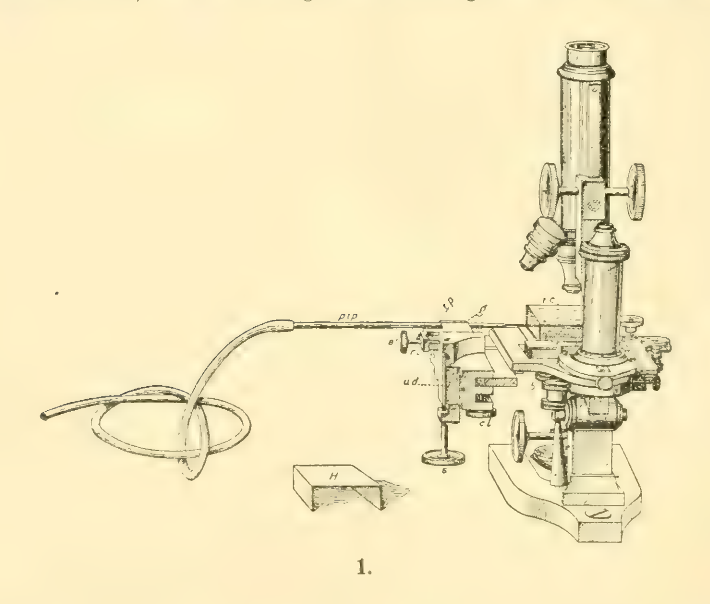
Dieses hervorragende, durch Zusammenarbeiten der genannten Forscher entstandene Werk enthält auch eine Darstellung der mikroskopischen Untersuchungsmethoden. Der großangelegte Plan verbot selbstverständlich das Eingehen in technische Details; um so klarer sind die leitenden Prinzipien herausgearbeitet. A. Fischel bespricht in dem Abschnitt über die Richtungen der biologischen Forschung die zoologisch-mikroskopische Technik; G. Rosenberg behandelt die botanischen Untersuchungsmethoden. Beide gehen aus von der Untersuchung lebender bzw. überlebender Objekte und erörtern alsdann das Fixieren, Färben, Schneiden, Isolieren und Mazerieren, das Anfertigen von Dauerpräparaten. Der zoologische Abschnitt geht noch auf Rekonstruktions- und Zeichenapparate, der botanische auf Membranfärbungen, Plasmodesmen, Färbungsanalyse, Plasmolyse und mikrochemische Methoden ein. Die Darstellung ist einfach, klar und zuverlässig. In dem von B. Lidforss gelieferten Abschnitt „Protoplasma" sind u. a. das physikalische und chemische Verhalten des Plasma, die Plasmolyse, die feinere Struktur der lebendigen Substanz (Wabentheorie) und der Wert unserer Fixierungs- und Färbeverfahren behandelt. Die hier gegebenen Erörterungen über Kolloide werden ergänzt durch den aus der Feder W. Ostwalds stammenden Artikel über „die allgemeinen Kennzeichen der organisierten Substanz". — Auch aus dem übrigen reichen Inhalt des Werkes vermag der Mikroskopiker mannigfache Belehrung und Anregung zu schöpfen. Es seien besonders genannt die Abschnitte über die Bewegung der Chromatophoren (Senn), über Mikrobiologie und allgemeine Biologie der Protisten (Hartmann), über Fortpflanzung (Godlewski und Claussen), über tierische Entwicklungsmechanik (Laqueur) und über Regeneration und Transplantation (Przibram und Baur); sie alle erschöpfen sich nicht in bloßer Tatsachendarstellung, bieten vielmehr in vorzüglicher Ausarbeitung reichen Gedankeninhalt.

Hans Schneider (Bonn).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Barber, M. A., The pipette method in the isolation of single mikroorganisms and in the inoculation of substances into living cells (The Philippine Journ. of Science vol. 9, 1914, sec. B, no. 4).

Verf. beschreibt das Ergebnis seiner Versuche, feine Pipetten zur Auslese von Mikroorganismen, zur Einführung von Stoffen in lebende Zellen, zur Fixierung und Färbung usw. unter dem Mikro-

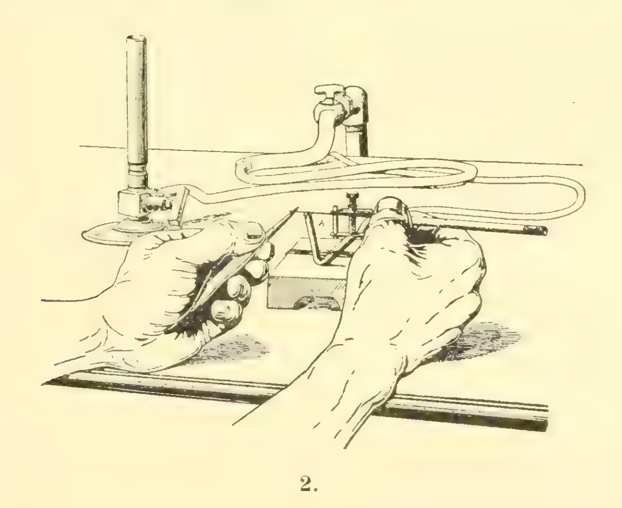


1.

skop zu benutzen, so eingehend, daß hier Beschränkung auf die wichtigsten Gesichtspunkte und technischen Einzelheiten geboten ist.

1) Isolierung von Mikroorganismen. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß eine sehr fein ausgezogene gläserne Kapillarpipette in einen hängenden Tropfen an der Unterseite eines großen, eine feuchte Kammer bedeckenden Deckglases eingeführt, hier mit dem zur Isolierung ausgewählten Organismus in Berührung gebracht, sodann mit der Spitze in einen sterilen Tropfen gebracht und durch Ausblasen mit dem Munde entleert wird. Der ganze Vorgang kann unter dem Mikroskop, selbst bei stärkster Vergrößerung, beobachtet werden. Die erforderliche Apparatur ist in Figur 1 dargestellt; sie besteht aus dem Pipettenhalter, der Pipette mit Gummischlauch und der feuchten Kammer.

Die Konstruktion des Pipettenhalters (zu beziehen von der Universität in Kansas, Lawrence, Kansas, U. S. A.) ist ohne weiteres verständlich. Drei senkrecht zueinander gelagerte Schrauben ermöglichen es, die in einer Nute (*g*) festgeklemmte Pipette nach allen Richtungen hin zu bewegen. Der Halter wird bei ständigem Gebrauch an einer unter dem Mikroskoptische angeschraubten Metallplatte, bei gelegentlicher Anwendung an einer Holzplatte, die sich unter dem Mikroskoptisch mit Klammern befestigen läßt, angebracht. Der Pipettenhalter läßt sich ohne großen Nachteil durch folgende Einrichtung ersetzen: Man befestigt ein Präpariermikroskop in geeigneter Stellung neben dem Arbeitsmikroskop mittels einer Klammer, steckt die Pipette durch einen prismatisch zugeschnittenen und der Länge nach durch-



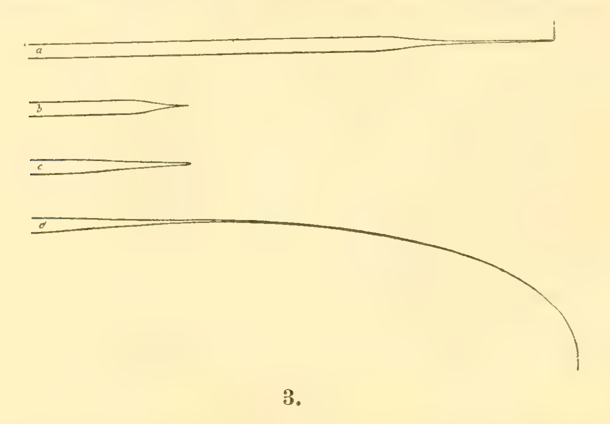
2.

bohrten Kork und bindet diesen auf dem Lupenarm des Präpariermikroskopes fest; die Bewegung der Pipette nach oben und unten wird durch die Schraube des Präpariermikroskopes, die von links nach rechts durch Verschieben der Pipette in dem Kork, die von hinten nach vorn durch Drehung des Lupenarmes herbeigeführt. Größere Schwierigkeiten bereitet es schon, die Pipette allein mit der rechten Hand zu betätigen; sie wird dabei mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand gefaßt, während die anderen Finger sich gegen und unter den Mikroskoptisch stemmen.

Die Herstellung der Pipetten zeigt Figur 2. Man fertigt einen Mikrobrenner (*b*) an, indem man ein Glasrohr rechtwinklig umbiegt, sein Ende erhitzt und die Öffnung stark verengt. Der Mikrobrenner wird auf einer Holzplatte so befestigt, daß seine Öffnung etwa 6 cm über der Tischplatte liegt. Die Flamme soll nicht über 2 mm hoch sein. Ein über der Bunsenflamme zu einer Kapillare von

$^1/_2$ mm Durchmesser ausgezogenes Glasrohr wird in der figürlich dargestellten Weise gefaßt und mit dem Kapillarende in die Flamme gebracht. Mit der Pinzette übt man dabei einen leichten Zug aus. Wenn das Glas zu schmilzen beginnt, entfernt man es langsam von der Flamme und zieht etwas stärker. Bei einiger Übung erzielt man so eine sehr feine geschlossene Kapillare (Fig. 3, *b*, *c*, *d*). Diese erwärmt man dicht hinter der Spitze, so daß letztere mit der Pinzette oder mit einer Nadel im rechten Winkel aufwärts gebogen werden kann. Die Pipette ist nun fertig (Fig. 3, *a*); ihre Spitze wird erst unter dem Mikroskop abgebrochen.

Die feuchte Kammer (Fig. 1, *ic*) stellt man durch Aufkleben von Glasstreifen auf Objektträger her. Man gibt ihr am besten 70 mm Länge, 35 mm Breite und 28 mm Höhe. An der offenen Schmalseite, die zur Einführung der Pipette dient, klebt



3.

man auf dem Boden zweckmäßig einen niedrigen Glasstreifen fest, der das Abfließen von Wasser aus der Kammer verhindert. Die Seiten der Kammer belegt man, wenn notwendig, mit Filtrierpapier; damit verschließt man auch die offene Seite. Eventuell bedeckt man die Kammer noch mit einer Kappe aus angefeuchtetem Pappdeckel (Fig. 1, *H*). — Von großer Wichtigkeit ist die Behandlung des Deckglases, das man zur Bedeckung der feuchten Kammer benutzt. Man überstreicht mehrere gut gereinigte Deckgläser mit Vaseline und hebt sie staubfrei auf. Soll eines gebraucht werden, so befreit man es mit Seife und Wasser vom größten Teil der Vaseline, reinigt es sorgfältig mit einem trockenen Tuch, erweicht die noch vorhandene Vaseline durch Erwärmen etwas und reibt sogleich noch einmal nach. Unter Umständen empfiehlt es sich, das Glas darauf anzuhauchen und wiederum mit reinem Tuch zu reiben. Feine Wassertropfen, die man auf das Deckglas bringt, dürfen nunmehr nicht zusammenfließen. Ist noch zu viel Vaseline vorhanden, so erscheinen in den Wasser-

tropfen feine Partikel, die zur Verwechslung mit Bakterien Anlaß geben können; ist alle Vaseline entfernt, so fließen eng beieinanderliegende Tröpfchen zusammen.

Die Isolierung verläuft folgendermaßen: Man bestreicht den oberen Rand der feuchten Kammer dick mit Vaseline, bedeckt den Boden mit Wasser und befeuchtet das Filtrierpapier der Wände, sterilisiert ein nach der obigen Vorschrift präpariertes Deckglas durch vorsichtiges, die dünne Vaselineschicht nicht beseitigendes Erwärmen über einer Gasflamme und drückt es auf den Rand der Kammer. Mit einer Platinöse oder noch besser mit einer an der Spitze umgebogenen Pipette bringt man auf der Unterseite des Deckglases Tröpfchen steriler Nährlösung an. Es empfiehlt sich, das Deckglas auf der Oberseite durch Tuschestriche in einige Felder abzuteilen; das erleichtert die Einstellung auf die Tropfen und ermöglicht ihre sichere Unterscheidung. Einer der Tropfen, der nahe dem offenen Ende der Kammer liegt, wird mit den Organismen, die zur Isolierung bestimmt sind, geimpft. Alsdann bringt man die Kammer auf den Tisch des Mikroskopes und stellt mit schwacher Vergrößerung so ein, daß die Mitte des freien Deckglasrandes das Gesichtsfeld halbiert. Nachdem das Objektiv dem Deckglas bis auf 2 bis 3 mm genähert und das offene Ende der Kammer durch ein Stück angefeuchteten Filtrierpapiers geschlossen worden ist, fertigt man in der besprochenen Weise eine Pipette an und befestigt sie am Pipettenhalter, der so eingestellt sein muß, daß die Pipette zwar dicht unter dem Deckglas steht, aber nicht mit den hängenden Tropfen in Berührung kommt. Mit Hilfe der Schrauben des Pipettenhalters bringt man die Spitze der Pipette in die Mitte des Gesichtsfeldes. Man kann dazu den Rand des Deckglases und den Tubus des Mikroskopes als Visierlinien benutzen oder auch nach Entfernung von Okular und Objektiv durch den leeren Tubus schauen. Mittels des beweglichen Kreuztisches bringt man alsdann den Rand eines der hängenden Tropfen von steriler Nährlösung in das Gesichtsfeld, stellt nun wieder genau auf die Spitze der Pipette ein und hebt gleichzeitig Pipette und Objektiv, bis die Pipettenspitze das Deckglas dicht neben dem Tropfen berührt. Indem man, die Pipettenspitze sanft gegen das Deckglas drückend, den beweglichen Kreuztisch leicht bewegt, erreicht man, daß ein sehr kleines Stück der Pipette abbricht und eine enge Öffnung entsteht. Mit dieser führt man die Pipette für einige Sekunden in den Nährlösungstropfen ein und saugt gleichzeitig am Gummischlauch, so daß die Pipette etwas von der Flüssigkeit aufnimmt.

Es gilt nun, die Pipettenspitze in die Mitte des Gesichtsfeldes eines stärkeren Objektives zu bringen. Das ist einfach, wenn die Gesichtsfelder der beiden Objektive genau zusammenfallen. Im anderen Falle bringt man, zweckmäßig mit Hilfe des Mikrometer-Okulares, die Spitze an einen vorher bestimmten, dem Zentrum des Gesichtsfeldes der starken Vergrößerung naheliegenden Punkt. Nun schraubt man

die Spitze bis zur Berührung mit dem Deckglas empor, bläst durch den Gummischlauch ein kleines Tröpfchen aus und entfernt die Spitze sofort, ehe die Flüssigkeit wieder kapillar aufgesogen wird. Geht man nun zur stärkeren Vergrößerung über, so ist es nicht schwer, erst auf das Tröpfchen und dann auf die Spitze, die allmählich wieder gehoben wird, einzustellen. Schwierigkeiten beim Ausblasen des Tröpfchens werden veranlaßt durch zu enge Öffnung oder nicht ausreichende Füllung der Pipettenspitze oder durch völlige Trockenheit der Deckglasunterseite; dem letzten Fehler hilft man ab durch Beschicken des Bodens der feuchten Kammer mit etwas erwärmtem destilliertem Wasser. (Der mit der Technik näher Vertraute wird es oft vorziehen, das Abbrechen der Pipettenspitze erst nach Einstellen mit starker Vergrößerung vorzunehmen; man kann dann die Weite der Öffnung, die für Bakterien etwa 2 bis 5 μ betragen soll, besser kontrollieren.)

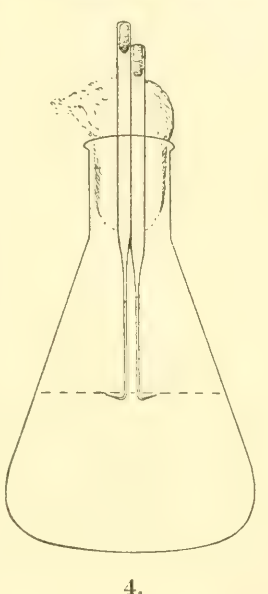
Ist die Spitze der Pipette genau in die Mitte des Gesichtsfeldes des starken Objektives gebracht, so schraubt man den Pipettenhalter etwas abwärts und bringt mittels des Kreuztisches den hängenden Tropfen, der die Bakterien usw. enthält, mit seinem Rande an dieselbe Stelle. Ist ein Bakterium zu isolieren, so bringt man es in die Mitte des Gesichtsfeldes, hebt die Pipette vorsichtig, bis sie dicht bei dem Organismus den Tropfen berührt, und senkt sie augenblicks. Der kleine Organismus wird meist durch Kapillarwirkung in die Pipette eingesogen. Jetzt entfernt man den bakterienhaltigen Tropfen aus dem Gesichtsfeld und bläst in der Nähe eines der Tropfen von steriler Nährlösung in der oben beschriebenen Weise kleine Tröpfchen aus, deren eines das Bakterium enthält. Bei genügend kleinen Tröpfchen (etwa 25 μ Durchmesser) ist es nicht schwierig, sicher festzustellen, ob nur ein Bakterium in ihnen enthalten ist. Es ist leicht, überzählige Bakterien oder Partikel zweifelhafter Natur aufzunehmen und zu entfernen. Bereitet das Ausblasen der Tröpfchen Schwierigkeiten, so bringt man die Pipettenspitze in Kontakt mit dem benachbarten größeren Nährlösungstropfen.

Man kann nun nach Belieben den isolierten Organismus an seinem Platze lassen und durch Zufügen von Nährlösung (eventuell mit Gelatine oder Agar) seine weitere Entwicklung sichern, oder ihn auf ein anderes steriles Deckglas bzw. in ein Probierröhrchen übertragen. Es macht auch keine Schwierigkeit, an einem Deckglas viele Einzelkulturen anzubringen. Soll für jede Kultur ein besonderes Deckglas benutzt werden, so schiebt man das erstbenutzte Deckglas etwas zur Seite, legt ein sterilisiertes, durchlochtes Stück Glimmer so an, daß sich die Kanten berühren und bedeckt das Loch nacheinander mit kleinen Deckgläsern, an denen man die Einzelkulturen anbringt. Das Glimmerstück und die zum Abheben der Deckgläschen dienende Pinzette werden nach jeder ausgeführten Isolierung in der Hitze sterilisiert. — Wenn kein ganz bestimmtes Bakterium isoliert werden soll, nimmt man gleich mehrere mit der Pipette auf, bringt sie in

einen der größeren Nährlösungstropfen, so daß sie sich verteilen, füllt dann die Pipette aus dem Tropfen und fertigt eine Reihe kleiner Tröpfchen an, die nun auf die Anwesenheit nur eines einzigen Bakteriums untersucht werden; es ist nicht nötig, dabei Tusche zuzufügen.

Der ganze, in der Beschreibung umständlich erscheinende Prozeß ist in einigen Minuten ausführbar; bei größeren Organismen (Pilzsporen usw.) verkürzt er sich noch dadurch, daß man nicht zur starken Vergrößerung überzugehen braucht. Es ist anzunehmen, daß die Barbersche Methode zur Gewinnung von Einzellkulturen die bisher angewandten in vielen Fällen ersetzen und ergänzen kann.

Die Methode ist auch anwendbar zur Auslese bestimmter Algen, Protozoen, Bakterien u. a. Organismen aus Petri-Schalen oder anderen Gefäßen mit Wasser oder Nährflüssigkeit; es ist aber hierbei erforderlich, mit Rücksicht auf den Rand des Gefäßes der Pipette eine U-förmige Einbiegung nach oben zu geben. Muß starke Vergrößerung angewandt werden, so schützt Verf. das Objektiv durch Aufsetzen eines passend ausgehöhlten Korkes (oder eines Gummischlauches), dem unten mit Vaseline ein Deckglas aufgeklebt wird.



4.

2) Andere Anwendungen. Es ist möglich, mit der Pipette die in der angegebenen Weise aufgenommenen Organismen durch Einführung der Pipettenspitze in die Haut eines Tieres zu übertragen. — Die Pipettenmethode erlaubt es, im hängenden Tropfen serologische Prüfungen vorzunehmen (Agglutination, Präzipitation). — Chemotaktische Untersuchungen können ebenfalls im hängenden Tropfen ausgeführt werden. Verf. gibt auch eine einfache Methode an, wie man chemotaktisch verschieden reagierende Bakterien gesondert kultivieren kann. Zwei Pipetten, die mit verschiedenen Reagentien teilweise gefüllt sind, werden in einen Kochkolben eingeführt und mit Watte verstopft (Fig. 4); haben sich die Bakterien auf sie verteilt, so kann man sie mit einer langen Platinnadel von oben her entnehmen, — auch ihre weitere Entwicklung verfolgen, wenn man die Pipetten etwas in die Höhe zieht. — Die feine Kapillarenspitze ist geeignet, Zerlegungen bei starker Vergrößerung zu erleichtern. So kann man Amöben in zwei Teile zerlegen, indem man die scharfe Spitze durch sie hindurchzieht; in ähnlicher Weise kann man ihren Nucleus entfernen, am leichtesten, wenn er nahe dem Rande liegt. Die Sporen

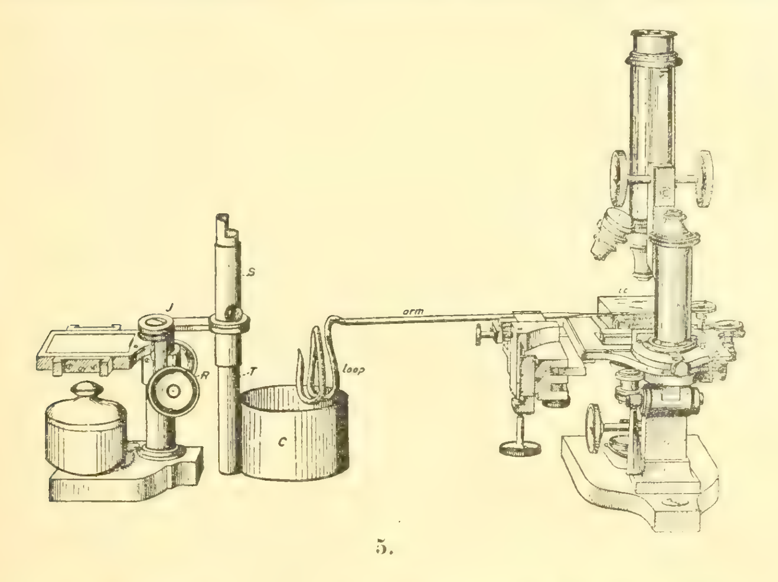
in Hefezellen kann man mit der Kapillare aus ihrer Hülle befreien und voneinander sondern. Bakterienhaufen werden zerteilt, indem man die sie umgebende Flüssigkeit abzieht und mit der Pipettenspitze gegen die Bakterien drückt. — Spezielle Angaben über das Arbeiten mit zwei Pipetten und andere Einzelheiten sehe man im Original nach.

3) Einführung von Stoffen und Mikroorganismen in lebende Zellen. Diese Methode bedarf einer ausführlichen Besprechung. Die Pipetten müssen aus Röhren mit etwas dickeren (etwa 0·7 mm starken) Wänden hergestellt und, um die Verwundung der Zellen möglichst gering zu machen, mit äußerst feinen Spitzen versehen werden.

Das zur Herstellung der Pipette verwendete Glasrohr wird zunächst an einem Ende mehrfach gebogen (Fig. 5, *loop*) und an der Öffnung zu einer nicht sonderlich engen Kapillare ausgezogen. Das Rohr wird erhitzt, das Kapillarende in Quecksilber getaucht und mit diesem durch Saugen am geraden offenen Ende (Gummischlauch) fast ganz gefüllt. Man hält das Rohr nun so, daß das Kapillarende frei von Quecksilber wird, verengt in der Hitze die Kapillare, läßt darauf durch entsprechendes Neigen des Rohres das Quecksilber wieder an die Kapillare herantreten und schmilzt sie in diesem Augenblick zu. Dies Verfahren bezweckt die luftfreie Füllung des Rohres bis auf etwa 2 cm vom offenen Ende, das am besten mit etwas Watte verstopft wird. Das offene Ende wird nun ebenfalls zu einer gewöhnlichen Kapillare ausgezogen und durch Anwendung von Hitze in der bekannten Weise fast ganz mit Quecksilber gefüllt. Dann erwärmt man den gewundenen Teil der Pipette, taucht die Spitze in dem Moment, wo alle Luft ausgetrieben ist, in Quecksilber und steckt sogleich das gewundene Stück teilweise in eine bereitgestellte, mit Eiswasser gefüllte Kristallisierschale. Nun entfernt man die Spitze aus dem Metall, taucht aber die Windungen noch tiefer in das Eiswasser, so daß sich das Quecksilber 4 bis 5 cm zurückzieht. Jetzt fertigt man rasch in der unter 1) beschriebenen Weise die feine Kapillare an, die zur Injektion dienen soll. Sie soll eine sich schnell verjüngende, geschlossene Spitze haben. Unmittelbar vor dem Aufbiegen der Spitze taucht man die Rohrwindungen ganz in das Eiswasser ein, damit an der Erwärmungsstelle kein Brechen eintritt. Die Pipette wird nun im Halter befestigt und mit den Windungen in das mittels der Rohre *T* und *S* an dem Präpariermikroskop beweglich angebrachte Messinggefäß *C* (Fig. 5), das Wasser und Eis enthält, eingetaucht. Es wird jetzt die Pipettenspitze unter starker Vergrößerung auf einen hängenden Wassertropfen eingestellt (s. o.) und in ihm abgebrochen. (Sollen Flüssigkeiten injiziert werden, so muß die Öffnung äußerst fein sein; zur Einführung von Bakterien u. a. Organismen bedarf es etwas weiterer Öffnung.) Nun senkt man das Eisgefäß *C* so weit, daß das Quecksilber bis an die Kapillarenspitze vordringt, bringt letztere darauf in den hängenden Tropfen mit der Flüssigkeit, die eingespritzt werden soll,

hebt das Eisgefäß, so daß die Flüssigkeit dem sich zusammenziehenden Quecksilber folgt, schraubt die Pipette etwas herab, stellt ihre Spitze so schnell wie möglich auf den Organismus, der geimpft werden soll, ein und durchbohrt seine Zellwand mit der Spitze durch Heben der Pipette. Durch vorsichtiges Senken des Eisgefäßes *C* kann man nun beliebig viel Flüssigkeit in die angebohrte Zelle eintreten lassen. Will man mit der Injektion aufhören, so braucht man nur das Eisgefäß *C* wieder zu heben, so daß sich das Quecksilber zusammenzieht, und gleichzeitig die Pipette zurückzuziehen.

Das Schwierige bei der Technik ist, durch rechtzeitiges Heben und Senken des Behälters *C* die richtige Dosierung des eingespritzten



5.

Mediums zu erzielen. Die linke Hand muß stets an der Schraube *R* liegen; auch hat man darauf zu achten, daß in *C* stets Eis schwimmt. In dem Moment des Einführens der Spitze in die Zelle soll das Quecksilber sich nicht bewegen. Es ist daher zur Erzielung größerer Schnelligkeit beim Anstechen der Zelle zweckmäßig, die Zelle vor dem Füllen der Pipette an einen durch Tuschelinien auf dem Deckglas kenntlich gemachten, dem Füllungsorte naheliegenden Ort zu bringen. Beim Herausziehen der Pipette aus dem Zellinnern kann es bei etwas weiteren Kapillaren vorkommen, daß das Plasma austritt. In solchen Fällen entfernt man die Spitze sehr langsam, so daß sich an der Durchbruchsstelle der Zellwand eine Protoplasmaansammlung bilden kann, die die Öffnung verstopft. Liegt Gefahr vor, daß sich die eingespritzte Flüssigkeit wieder in die Kapillare zurückzieht, wenn der Druck reduziert wird, so stößt

man die Spitze nur eben durch den Protoplasmabelag der Zellwand und wartet mit dem Zurückziehen, bis sich genügend Protoplasma über die Spitze gelagert hat, so daß diese gegen den Zellinhalt abgeschlossen ist.

Verf. hat die beschriebene Technik bisher hauptsächlich auf Algen (Nitella, Vaucheria, Spirogyra) und Saprolegniaceen angewandt, aber auch Rotiferen und Mückenlarven nach ihr mit Quecksilber injiziert oder mit Bakterien infiziert. Er hofft, „daß diese Einspritzungs-Technik in ihren verschiedenen Formen zur Lösung verschiedener Probleme der Biologie mikroskopischer Pflanzen und Tiere beitragen werde. Die Einführung von Nährstoffen, Giften, Farben und Fixiermitteln wird durch sie ermöglicht . . .; schließlich können Stoffe aus einer Zelle entnommen und in eine andere eingeführt werden, und es ist möglich, daß dadurch die Probleme der Befruchtung und Vererbung erweitert werden.“ Es ist sicherlich wichtig, eine Methode zu haben, die uns bei der Einführung von Stoffen in lebende Zellen von den Eigenschaften der Plasmahaut unabhängig macht; wir müssen aber, selbst wenn das Eindringen der Kapillare nicht besonders schädlich ist, mit den Folgen der Verwundung rechnen und sie zunächst für sich genau feststellen. —

Die Methoden des Verf. sind sehr beachtenswert. Der hier gegebene kurze, sich auf das Wesentlichste beschränkende Abriß wird als Leitfaden für ihre erste Anwendung ausreichen. Die Praxis muß bei einer so schwierigen Technik, deren Nützlichkeit durch die Geschicklichkeit des Arbeitenden mitbestimmt wird, die zweckmäßigsten kleinen Handgriffe lehren.

Hans Schneider (*Bonn*).

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Hausding, B., Studien über Actinoloba (Metridium) dianthus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 38, 1913, p. 49—135 m. 34 Figg.).

Zur Herstellung der mikroskopischen Präparate wurden die Polypen erst mit Magnesiumsulfat betäubt, dann durch Zusatz von stark verdünnter Chromessigsäure fixiert und nach der allgemein üblichen Vorbehandlung in Paraffin eingebettet. Hierbei zeigte sich, daß der Schleim das Paraffin stark am Eindringen hinderte, so daß sowohl Stücke als ganze Tiere sehr lange Zeit im Paraffin bleiben mußten. Die Färbung der Schnitte erfolgte mit Hämalaun und Boraxkarmin.

E. Schoebel (*Neapel*).

Mrázek, A., Regenerationsversuche an der tripharyngealen Planaria anophthalma (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **38**, 1914, p. 252—276 m. 9 Figg.).

Experimentelle Regenerationen an polypharyngealen Planarien, die in den Bergbächen Montenegros und des Balkans vorkommen und stenotherme Kaltwasserformen sind, waren bisher daran gescheitert, daß die Tiere den notwendig langen Transport nicht überstanden. Verf. kam nun auf den glücklichen Gedanken, denselben mit Hilfe einer Thermosflasche zu versuchen, und es gelang wirklich 80 Exemplare, die zusammen mit etwa 250 cc Wasser in eine solche eingeschlossen wurden, von Montenegro bis Prag lebend und im besten Zustande zu befördern. Einige Zeit nach der Ankunft wurde das Material in zwei flache Glasdosen, deren Boden mit einer Schicht reinen Quarzsandes bedeckt war, in ungefähr 100 und 200 cc Brunnenwasser verteilt. Die mit Glasdeckel bedeckten Dosen bildeten das Reservoir, dem die zur Untersuchung benötigten Individuen jeweils entnommen wurden. Hier wurden die Planarien mit zwei bis drei Stück geschnittenen Gammari gefüttert, die Überreste aber immer baldmöglichst mit einer Pipette wieder entfernt, um Fäulnis zu verhüten. Das Wasser wurde aber nie gewechselt. Die Versuchstiere, bzw. die Stücke wurden in ganz kleinen Glasdosen ebenfalls auf Sand und in geringer niedriger Wassermenge ohne jeglichen Wasserwechsel gehalten. Die Sterblichkeit war gleich Null, sowohl der Stücke, als auch der aus den Regeneraten hervorgegangenen neuen Würmer. Begünstigt wurden die Versuche vielleicht durch die während der Versuchszeit herrschende kühle Witterung. Anfangs betrug die Temperatur im Zimmer, in welchem die Versuchsobjekte sich befanden, 8 bis 10° C. Aber auch später bei etwas höherer Temperatur waren keine nachteiligen Folgen zu konstatieren. Eine primitive Abkühlungsvorrichtung bestand darin, daß die Glasdosen mit den Versuchstieren auf einer aus Asbestpappe hergestellten Unterlage standen, die fortwährend feucht erhalten wurde. *E. Schoebel (Neapel).*

Burghause, F., Kreislauf und Herzschlag bei Pyrosoma giganteum nebst Bemerkungen zum Leuchtvermögen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **108**, 1914, p. 430—497 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.).

Gute Resultate bei der Fixierung gaben vor allem Sublimat-Essigsäuregemische mit nachfolgendem langsamem Überführen in Alkohol. Flemmingsche Lösung empfiehlt sich für das Studium der Herzstruktur; das zarte Bindegewebe, in dem die Gefäße verlaufen, zerreißt allerdings bei dieser Fixierung oft. Die Aufbewahrung des Materials bis zur weiteren Verarbeitung geschah in 80prozentigem Alkohol. Zur Anfertigung von Schnitten wurden die Embryonen mit Hilfe von Nelkenölkollodium, größere Objekte direkt durch Xylol oder Chloro-

form in Paraffin eingebettet. Die Färbung erfolgte mit DELAFIELDS Hämatoxylin oder am besten mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin mit oder ohne Nachtinktion durch Lichtgrün oder Orange G. Injektionen konnte Verf. selbst bei den größten Individuen nicht zustande bringen, da auch die feinsten Glaskanülen, nachdem sie durch den Zellulosemantel geführt waren, das zarte Gewebe zerrissen. Der Verlauf kleinerer Gefäße konnte also nur an lebendem Material studiert werden, da Schnittserien wegen der Zartheit des Bindegewebes durch Zerreißungen leicht Trugbilder geben. *E. Schoebel (Neapel).*

Breßlau, E., u. Voß, H. v., Das Nervensystem von Mesostoma Ehrenbergi [FOCKE] (Zool. Anz. Bd. **43**, 1915, p. 260—263 m. 2 Figg.).

Die Untersuchungen wurden an Total- und Schnittpräparaten ausgeführt. Was speziell das Hautnervennetz betrifft, so konnte dasselbe in der Weise zur Darstellung gebracht werden, daß die ganzen Tiere direkt zu GOLGI-Präparaten verarbeitet wurden. Dabei wurde zur Fixierung das von VAN GEHUCHTEN angegebene Gemisch von 4 Teilen einer 3prozentigen Kaliumbichromatlösung und 1 Teil einer 1prozentigen Osmiumsäurelösung benutzt, das auch die äußere Körpergestalt vortrefflich erhält. Zur Versilberung diente eine 1prozentige Lösung von Silbernitrat. Vor dem Einbringen in dieselbe wurden die Tiere jedoch durch vorsichtiges Eintauchen in eine erwärmte Gelatinelösung und darauffolgende sofortige Überführung in kaltes Wasser mit einem Gelatineüberzug versehen, der die oft sehr störende schwarze Silberkruste von ihrer Haut fernhielt, nach der Einwirkung der Silbernitratlösung aber leicht in warmem Wasser wieder beseitigt werden kann, so daß die Tiere zum Schluß wieder tadellos durchsichtig werden und, bei gelungener Imprägnation, in Kanadabalsam eingeschlossen werden können. Fast immer sind in solchen Präparaten die Grenzen der Epithelzellen infolge Versilberung der Interzellularsubstanz deutlich sichtbar, und in vielen Fällen erscheint außerdem etwas tieferliegend ein wesentlich engmaschigeres Netz schwarzer Fasern mit unregelmäßigen Anschwellungen, der Hautnervenplexus, der nicht selten auf weite Strecken zu verfolgen ist.

E. Schoebel (Neapel).

Haanen, W., Anatomische und histologische Studien an Mesothuria intestinalis (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 185—255 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.).

Älteres Alkoholmaterial zeigte sich für die histologischen Untersuchungen völlig unbrauchbar, aus neuerer Zeit stammendes Formolmaterial dagegen ganz hervorragend. Nicht einmal die Kalkkörper, die leicht von Formol angegriffen zu werden pflegen, waren beschädigt.

Bei der Einbettung lieferte die einfache Paraffinmethode verhältnismäßig bessere Resultate, als die komplizierte Zelloïdin-Paraffindurchtränkung. Harte Stücke, z. B. entkalkte Hautstücke, müssen durch Zedernholzöl, Zedernholzöl-Paraffin durchgeführt werden. Die Entkalkung geschieht am bequemsten, indem man größeren Mengen etwa 80prozentigen Alkohols tropfenweise konzentrierte Salpetersäure zusetzt.

Für Kernfärbungen nahm Verf. Thionin, Delafields Hämatoxylin und Heidenhains Eisenhämatoxylin, daneben zu Stückfärbungen Boraxkarmin. Letzteres reicht gewöhnlich zur Färbung sehr dünner Schnitte nicht aus, leistet aber bei hinterher aufgehellten Totalpräparaten ausgezeichnete Dienste. Thionin ist neben Eisenhämatoxylin der beste Kernfarbstoff, hat aber die unangenehme Eigenschaft, oft schon in ganz kurzer Zeit zu verblassen. Delafields Hämatoxylin färbt auch das Bindegewebe und eignet sich vorzüglich zum Nachweis feiner, bindegewebiger Membranen. Zur Nachfärbung nach Delafields Hämatoxylin fand Verf. nur Eosin oder Säurefuchsin geeignet. Nach vorhergegangener Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin waren dagegen die meisten Plasmafarbstoffe mit gutem Erfolg anzuwenden, z. B. Eosin, Wasserblau, Säurefuchsin, Pikrinsäure, Dahlia, Methylgrün u. a. Die besten und schönsten Differenzierungen ergaben die Kombinationen: Eisenhämatoxylin, Pikrinsäure-Säurefuchsin oder Pikrinsäure-Wasserblau. *E. Schoebel (Neapel).*

Krasińska, S., Beiträge zur Histologie der Medusen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 256—348 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.).

Neben der Schnittmethode wurde in ausgiebiger Weise auch die Mazeration gebraucht, und zwar gab bei letzterer die Hertwigsche Methode mit Osmium-Essigsäure die besten Resultate. Nach Hertwig kommen die zu behandelnden Objekte je nach ihrer Größe 2 bis 3 Minuten in eine Mischung von 0·2 Prozent Essigsäure und 0·65 Prozent Osmiumsäure zu gleichen Teilen, werden dann öfters mit 0·1prozentiger Essigsäure ausgewaschen und bleiben einen Tag in letzterer liegen, um schließlich nach Waschen im Wasser gefärbt und in Glyzerin aufbewahrt zu werden. Die Anwendung bietet aber größere Schwierigkeiten, denn einmal haben verschiedene Nebenumstände, so z. B. die Temperatur, den größten Einfluß auf ihren Erfolg, und dann muß für jede Medusenart die Dauer der Fixation in der Osmium-Essigsäure, sowie die Dauer der mazerierenden Wirkung der Essigsäure experimentell festgestellt werden. Wenn die Temperatur nicht niedriger als 15° C ist, muß z. B. Pelagia etwa 6 bis 8 Stunden, Carmarina mindestens 24, Neoturris und Aequorea etwa 12 bis 18 Stunden in 0·1prozentiger Essigsäure liegen bleiben. Die Dauer der Mazeration muß aber auch nach dem zu behandelnden

Gewebe geändert werden. Am leichtesten mazerieren die Nervenringe und das Nesselgewebe, am schwierigsten die quergestreifte Muskulatur.

Zur Färbung gibt Verf. den Hämatoxylinfarbstoffen den Vorzug. Besonders zu empfehlen ist das Hämateïn I A nach Apáthy.

Das mazerierte Material kann in Glyzerin monatelang ohne Schaden aufbewahrt werden. Die mit Paraffin oder dergleichen umrandeten Präparate halten sich ebenfalls recht gut.

Die Präparate wurden durch Zerzupfen eines Stückchens Gewebe auf dem Objektträger und Zerklopfen unter dem Deckgläschen angefertigt. Beim Zerklopfen muß eine genügende Menge Flüssigkeit unter dem gestützten Deckgläschen vorhanden sein, da die Zellen durch die Vibration der Flüssigkeit und nicht durch Zerdrücken isoliert werden sollen.

Zur Fixierung der für Schnittpräparate dienenden Objekte sind die osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten zu bevorzugen. Die besten Resultate wurden mit dem schwachen Flemmingschen Gemisch erhalten. Außerdem wurde für Carmarina eine 6prozentige Sublimatlösung in Seewasser und ein Gemisch aus Sublimat-Formol-Eisessig (45 : 5 : 2 : 50 Wasser) gebraucht. Die meisten Medusen lassen sich mit Sublimat nicht fixieren, da sie bei der Nachbehandlung mit Jodalkohol zu sehr schrumpfen. Es empfiehlt sich womöglich ganze Tiere oder wenigstens große Gewebsstücke zu fixieren, da die Gewebe in der Nähe der Schnittflächen unerwünschte Veränderungen erleiden. Das Auswaschen des Materials nach Fixierung mit Flemmingscher Lösung bietet große Schwierigkeiten, da fließendes Wasser die Epithelien der Medusen ablöst.

Zum Einbetten diente ausschließlich die kombinierte Zelloïdin-Paraffin-Methode nach Apáthy. Aus dem absoluten Alkohol wurden kleine Gewebsstücke für mehrere Stunden in eine Mischung von gleichen Teilen von absolutem Alkohol und Äther gebracht, dann für 24 Stunden in eine Mischung von $^1/_5$ konzentrierter Zelloïdinlösung und $^4/_5$ Alkoholäther übertragen, für weitere 24 Stunden in eine zweite Mischung, die $^1/_3$ konzentrierte Zelloïdinlösung und $^2/_3$ Alkoholäther enthielt. Aus dieser zweiten Zelloïdinlösung wurden sie zum Härten direkt für 24 Stunden in Chloroform gebracht und aus diesem in gewöhnlicher Weise durch Chloroform-Paraffin in Paraffin vom Schmelzpunkt 56° C eingebettet. Wichtig ist dabei, daß so wenig wie möglich überflüssiges Zelloïdin mit eingebettet wird.

Von den verschiedenen versuchten Färbungsmethoden haben sich vor allem die Eisenhämatoxylinmethode nach Heidenhain und die Fuchsin-Anilinblau-Orange-Methode nach Mallory bewährt. Zur Kontrolle wurde immer Hämatoxylin-Eosin gebraucht. Das Hämatoxylin bringt die Kern- und Plasmastrukturen, die Querstreifung der Muskulatur, die Neurofibrillen in den Ganglienzellen und Nervenfasern sehr gut zum Vorschein. Die Mallory-Methode eignet sich ganz be-

sonders zum Studium der Muskulatur, da sie die Muskeln und Nesselzellstiele rot, die Stützlamelle blau färbt und sie gut voneinander zu unterscheiden erlaubt. *E. Schoebel (Neapel).*

B. Wirbeltiere.

Voigt, J., Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper [III. Mitt.] (Biochem. Zeitschr. Bd. 68, H. 5, 6, p. 477—509).

Es kam darauf an, das kolloide Silber, welches Kaninchen intravenös injiziert worden war, in den verschiedenen Organen nachzuweisen. Die gewöhnliche mikroskopische Untersuchung konnte nur für die gröberen Silberablagerungen in Betracht kommen. Bei den feineren, jedoch noch innerhalb des Auflösungsvermögens des Mikroskopes liegenden Metallniederschlägen verdeckt die Körnelung des fixierten Protoplasmas die Partikelchen oder läßt sie wenigstens nicht klar hervortreten. In einzelnen Gewebeteilen kann auch die Größe der Silberteilchen unterhalb des mikroskopischen Auflösungsvermögens liegen.

Versuche, den störenden Einfluß des Protoplasmas auszuschalten, indem die Schnitte mit Kalilauge behandelt wurden, führten zu keinem Erfolg. Das ungleichmäßig quellende Gewebe löste sich vom Objektträger. Wegen der geringen Menge des Silbers war auch mit einer Verdauung durch säurehaltiges Pepsin nichts zu erreichen.

Die Lösung der Aufgabe gelang mit einer Modifikation der Ultramikroskopie. Bei der gewöhnlichen Benutzung des Paraboloidkondensors leuchteten die Kolloide des Protoplasmas zu hell auf. Durch Einbettung in einem Mittel von ähnlichem Brechungsvermögen konnte hiergegen nichts getan werden. Aber eine erhebliche Abschwächung der Lichtquelle half. Wurde nämlich nur mit zerstreutem Tageslicht oder einer mattierten 50kerzigen Metallfadenlampe gearbeitet, so zeigten sich zwar die kleinen Metallpartikel leuchtend, das Protoplasma trat aber mehr zurück. — Zur Vermeidung der außerordentlich störenden Verunreinigungen der Schnitte und der sie umgebenden Medien ist ein peinlich sauberes Arbeiten notwendig: Die neuen Deckgläser und Objektträger müssen zunächst mit Alkohol abgerieben und dann in konzentrierter Salpetersäure gekocht werden; nach Abspülen mit destilliertem Wasser hebt man sie am besten in filtriertem Alkohol auf. Alle für die Behandlung der Präparate in Frage kommenden Flüssigkeiten müssen immer wieder durch sorgfältiges Filtrieren von Verunreinigungen befreit werden, der Kanadabalsam muß von Zeit zu Zeit im Dunkelfeld auf seine Reinheit geprüft werden. Verunreinigungen der Schnittpräparate selber zu verhüten ist wesentlich

schwieriger. Die Gewebe können mannigfaltige Niederschläge enthalten, so z. B., wenn sie nicht unmittelbar nach dem Tode des Tieres eingelegt worden sind, Ablagerungen aus dem fixierenden Formalin. Auch andere, durch normales oder pathologisches Funktionieren des betreffenden Organes bedingte Niederschläge können bei der Dunkelfelduntersuchung recht störend wirken. Schließlich ist noch einer Form der Verunreinigung des Präparates zu gedenken, die dadurch entsteht, daß die im Gewebe abgelagerten Metallteilchen durch die Klinge des Mikrotoms verschoben werden, wie es zuweilen bei gröberen Niederschlägen geschieht.

Zur Sicherung, daß es sich wirklich um Ablagerungen von Silber handelte, wurden Kontrollaufnahmen von Schnitten gemacht, nachdem dieselben der Einwirkung einer 0·5prozentigen Cyankaliumlösung, d. h. eines Lösungsmittels für Silber, unterworfen worden waren.

Auf die Ergebnisse dieser Untersuchung soll hier nicht eingegangen werden. Denn mit einer Art Vitalfärbung haben die eigenartigen Ablagerungen des Silbers in den verschiedenen Organen doch wohl kaum etwas zu tun.

Nach Ansicht des Ref. könnte auch ein physikalisch-chemischer Nachweis des Silbers beigebracht werden. Man kann es nämlich als Keim wirksam sein lassen, indem man den Schnitt erst mit Silbernitratlösung, dann mit Hydrochinon oder einer anderen Entwicklersubstanz durchtränkt. Dabei darf aber das Silbernitrat nur ganz kurz, d. h. nur minutenlang wirken, damit sich nicht durch Reduktion desselben neue Keime bilden. *Liesegang (Frankfurt a. M.).*

Rehs, J., Beiträge zur Kenntnis der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie insbesondere der Topographie des elastischen Gewebes des Palatum durum der Mammalia (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 1—127 m. 7 Figg. u. 4 Tfln.).

Zur Fixierung der Objekte diente im wesentlichen ein Gemisch von 9 Teilen 70prozentigem Alkohol und 1 Teil käuflichem Formol bei einer Einwirkungsdauer von 24 Stunden oder länger. Dünne kleine Gaumen wurden ganz, und zwar um das Rollen zu vermeiden, mit der Epithelseite nach unten auf eine Glasplatte gebunden, eingelegt, während aus großen und dicken Gaumen bestimmte Stücke herausgeschnitten und auf Glaswolle in die Fixierungsflüssigkeit gebracht wurden. Die so fixierten Präparate kamen dann in 80prozentigen Alkohol, um möglichst bald in Paraffin eingebettet zu werden. Für eine gelegentlich notwendige Aufbewahrung ist das von Flemming empfohlene Gemisch aus gleichen Teilen Alkohol, Glyzerin und Wasser als sehr zweckdienlich zu empfehlen. Um gute schnittfähige Konsistenz zu erhalten, ist bei der Einbettung als Vormedium nur Schwefelkohlenstoff anwendbar und es ist unbedingt zu vermeiden, die Objekte bei

der Entwässerung in den aufsteigenden Alkoholstufen, besonders in den höhergrädigen, überflüssig lange Zeit zu belassen, und notwendig, an Stelle des absoluten Alkohols Anilin zu setzen. Verf. brachte die Präparate aus dem 80prozentigen Alkohol oder aus dem Alkohol-Glyzerin-Wassergemisch auf 12 bis 24 Stunden in 90prozentigen Alkohol, hierauf bis zur vollständigen Aufhellung (etwa 24 Stunden oder länger) in Anilin, das bei dicken Objekten mindestens dreimal gewechselt wurde. Die direkte Überführung in Schwefelkohlenstoff hatte nun aber den Nachteil, daß die Stücke sich schwärzten, was jedoch bei bestimmten Färbungen durchaus nicht störend wirkt. Will man diese Schwärzung vermeiden, so läßt sich das Anilin erst durch ein Gemisch von absolutem Alkohol und Chloroform zu gleichen Teilen ausziehen, was nur ein Verweilen darin von längstens 3 Stunden beansprucht. Im Schwefelkohlenstoff bleibt das Objekt 12 bis 24 Stunden. Hieraus kommt es in eine gesättigte Lösung von Paraffin vom Schmelzpunkt 52° C in Schwefelkohlenstoff bei Zimmertemperatur. Nach 12 bis 24 Stunden wird dann das Gefäß auf einen Wärmeschrank, in dem eine Temperatur von etwa 35 bis 40° C herrscht, gebracht und häufiger Paraffin in kleinen Stücken zugefügt. Hier kann das Objekt ohne Schaden bis 24 Stunden verweilen. Ein öfteres Umrühren ist anzuraten, um dem Verdunsten des Schwefelkohlenstoffes nachzuhelfen. Schließlich wird das Objekt für nur 1 Stunde in ein Gefäß mit reinem Paraffin vom Schmelzpunkt 52° C getan, das in einer 2 bis 3° höheren Temperatur steht, als der Schmelzpunkt des Paraffins ist. Ein Übertragen auf 30 Minuten in neues Paraffin ist empfehlenswert, aber nicht unbedingt nötig. Die 20 bis 30 μ dicken Schnitte wurden auf mit Wasser benetzte Objektträger, die dünn mit Glyzerineiweiß bestrichen waren, gebracht. Beim Erwärmen streckten sich die Schnitte meist vollkommen und hafteten gut. Schwierigkeiten in dieser Beziehung traten nur bei Objekten ein, die ein sehr dick verhorntes Epithel besaßen. Hier machte es sich notwendig, die Schnitte noch vor dem vollständigen Verdunsten des Wassers mit Fließpapier zu bedecken, durch Streichen mit dem Finger festzudrücken und nach dem vollkommenen Trocknen der Schnittserie in eine ganz dünne Zelloïdinlösung zu tauchen. Das Zelloïdinhäutchen wurde dann in Chloroform gehärtet und war bei den weiteren Prozeduren nicht hinderlich. In dem Chloroform wurde übrigens gleichzeitig das Paraffin der Schnitte gelöst.

Eine prägnante färberische Darstellung der elastischen Fasern ergab nur das Weigertsche Resorzinfuchsin. Die Schnitte wurden in dieser Farbe 15 bis 20 Minuten gefärbt und so lange mit 96prozentigem Alkohol behandelt, bis sie keine Farbe mehr abgaben und die rotblaue Nuance sich in eine dunkelblaue verwandelt hatte. Da sich das Bindegewebe immer mehr oder weniger mitfärbt und die elastischen Fasern noch nicht in wünschenswerter Schärfe hervorheben, ist eine Nachfärbung in einer 5prozentigen Lösung von Pikrin-

säure in 96prozentigem Alkohol angebracht. In Fällen, wo eine Kernfärbung nötig war, wurde mit Böhmers Hämatoxylin 30 Minuten vorgefärbt. Zur Bindegewebsdarstellung empfiehlt sich die Hansensche Methode. Es wurde erst mit Resorzinfuchsin 20 Minuten gefärbt, nach Behandlung mit 90prozentigem Alkohol zwecks Kernfärbung auf 5 Minuten in Böhmers Hämatoxylin überführt und nach Abspülen mit Wasser nach Hansen in der bekannten Weise tingiert. Fett wurde an Gefrierschnitten mit Sudan III nach der von Rosenthal angegebenen Methode nachgewiesen, der Grad der Verhornung vermittelst der von Ernst für diesen Zweck empfohlenen Gramschen Methode, und Eleïdin mit Kongorot nach Buzzi.

Nach der Färbung wurden die Schnitte durch Xylol in Xylolbalsam gebracht. Bei den mit Zelloïdin überzogenen Schnitten mußte der absolute Alkohol umgangen werden, und es wurde eine Mischung von $^2/_3$ Xylol und $^1/_3$ Anilin vor Xylol eingeschaltet. Schnitte, die für gewisse Zwecke angefertigt wurden, wurden in Glyzeringelatine eingelegt. *E. Schoebel* (*Neapel*).

Krontowski, A., u. **Poleff, L.,** Über das Auftreten von lipoiden Substanzen in den Gewebskulturen und bei der Autolyse der entsprechenden Gewebe (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 58, 1914, H. 2, p. 406—433 m. 1 Tfl.).

Die Verff. haben bei ihren Untersuchungen die Originalmethode von Burrows-Carrel sowie eine von ihnen selbst ausgearbeitete Modifikation derselben angewendet. Diese letztere besteht darin, daß man, um die Gerinnung des Blutes zu verhindern, ihm eine geringe Menge von oxalsaurem Natrium zusetzt. Mit solchem Blute, resp. mit einem aus diesem Blute gewonnenen Plasma, können beliebige Manipulationen ausgeführt werden, wobei die Möglichkeit einer frühzeitigen Gerinnung ganz ausgeschlossen ist. Kurz vor der Anlage der Gewebskulturen wird das Plasma von dem oxalsauren Natrium in der Weise befreit, daß der durch Versetzen desselben mit Chlorkalzium entstandene Niederschlag von Kalzium-Oxalat durch Zentrifugieren am Boden abgesetzt wird. Zur Anfertigung der Kulturen dient also ein ganz reines, durchsichtiges Blutplasma, welches die Verff. als „Oxalat-Plasma“ bezeichnen. Diese Modifikation gestattet also, das nach der Ansicht der Verff. schwierigste Moment in der Technik der Gewebskulturen, nämlich die Gewinnung des Rein-Plasmas, ganz zu vermeiden, sie ist daher weit einfacher und leichter durchzuführen. Das nach dieser Methode gewonnene Plasma gerinnt meist gut ohne Zusatz von Embryo- resp. Muskelextrakt. Um das Rein-Plasma nach der Originalmethode von Burrows-Carrel zu gewinnen, wurde das Blut aus einer Arterie (meist Aorta abdominalis des Kaninchens) mittels geölter Kanülen in die paraffinierten Zentrifugengläschen übergeführt, und

diese in Eis gesetzt. Dann wurde das Blut so zentrifugiert, daß die Gläschen in den mit Eis gefüllten Hülsen befestigt wurden. Zur Anlegung der Gewebskulturen wurde das Plasma verdünnt mit destilliertem Wasser (2 Teile auf 3 Teile Plasma, nach CARREL). Die Milzkulturen zeigen in einem so mit Wasser verdünnten Plasma ein besseres Wachstum, als in einem unverdünnten, bei den Nierenkulturen dagegen war kein besonderer Unterschied vorhanden. Bei der Arbeit mit dem Oxalat-Plasma braucht man nicht die Reagenzgläschen zu paraffinieren und die Kanüle zu ölen. Das Blut wird in die gewöhnlichen Zentrifugengläschen, die auf $^1/_{10}$ Volum der gewünschten Blutmenge mit einer 1prozentigen Lösung von Natrium oxalicum gefüllt sind, aufgefangen. Für das Hühner- und Pferdeblut genügt schon $^1/_{20}$ Volum der Natrium-Oxalat-Lösung. Der Bequemlichkeit wegen ersetzt man die Korkstopfen in diesen Gläschen durch Glaskappen.. Zur Blutentnahme wurde beim Kaninchen meist die Ohrvene, beim Huhne die Vene des Flügels benutzt. Das Gefäß wurde angeschnitten, und das Blut mittels einer Pipette mit blasenförmiger Erweiterung, die vorher mit der Natrium-Oxalat-Lösung ausgespült worden war, angesaugt. Das Blut kann auch mit einer ebenso ausgespülten Spritze einer Vene entnommen werden. Will man das Oxalat-Plasma nach dem Zentrifugieren des Blutes aufbewahren, so verlötet man dasselbe in den PASTEURschen Pipetten, welche von beiden Seiten aufgezogen werden, und bringt sie in ein „Kältelager". Unmittelbar vor der Anlegung der Gewebskulturen wird das Oxalat-Plasma mit einem gleichen Volum modifizierter RINGERscher Flüssigkeit zur Befreiung von dem Natrium-Oxalat versetzt und dann 5 bis 10 Minuten lang zentrifugiert, bis der ganze Niederschlag sich am Boden abgesetzt hat. Bei den Versuchen, bei denen Phosphor und Ol. Pulegii angewendet wurden, wurde anstatt der RINGERschen Flüssigkeit Aqua Pulegii (aus RINGERscher Lösung mit Ol. Pulegii bereitet) resp. eine Phosphorlösung (RINGERsche Flüssigkeit, in der kleine Stückchen gelben Phosphors eine Zeitlang gelegen haben, wobei ein ganz kleiner Teil des Phosphors in die Lösung überging) in entsprechender Weise benutzt. Was die modifizierte RINGERsche Flüssigkeit anbelangt, so wurde zuerst benutzt die von GOLJANITZKY: Chlornatrium 8·1 g, Chlorkalium 0·2 g, Chlorkalzium 1·2 g, kohlensaures Natrium 0·2 g, Traubenzucker 1 g, destilliertes Wasser 1000 cc. Später wurde die folgende vereinfachte Lösung benutzt: Chlornatrium 8·2 g, Chlorkalzium 1·05 g, Chlorkalium 0·42 g, destilliertes Wasser 1000 cc. Diese Flüssigkeit ist so berechnet, daß der Überschuß des Chlorkalziums von dem dem Plasma zugesetzten Natriumoxalat gebunden und in Form von Kalziumoxalat gefällt wird, wobei das entstehende Chlornatrium zur Kompensation des Mangels dieses Salzes in der ursprünglichen Lösung dient, so daß zum Schlusse der Reaktion eine einfache RINGERsche Flüssigkeit mit dem normalen Gehalte an Salzen herauskommt. Ein Unterschied in bezug auf das Wachstum in dem Oxalat-Plasma

und in dem Rein-Plasma war nicht zu bemerken. In dem Oxalat-Plasma wurden auch die Gewebskulturen von dem Hundesarkom und Mäusekarzinom erhalten. — Zur Anlage der Kulturen wurden meist benutzt die Gefäße von Gabritschewski, seltener Deckgläschen oder Reagenzgläschen. Gewebskulturen der letzteren Art sind zur Einbettung in Paraffin und zum Schneiden sehr geeignet, doch ist das Wachstum im Reagenzgläschen niemals so üppig, wie bei anderen Methoden, was durch das Sauerstoffbedürfnis zu erklären ist. — Das zu züchtende Gewebe wurde in Ringerscher Flüssigkeit in kleine Stückchen zerschnitten, mittels gewöhnlicher Pasteurscher Pipetten, mit einer Gummikappe versehen auf den Deckel der Gabritschewski-Schale übertragen und mit Plasma bedeckt. Strenge Aseptik. — Zur Untersuchung der Fett- und Lipoidmetamorphosen dienten hauptsächlich Kulturen vom Mesenchym des Hühnerembryos und solche vom roten Knochenmarke des jungen Kaninchens, da diese beiden Gewebe in vitro sehr energisch wachsen und den Schädigungen also am besten widerstehen, so daß die sichersten Resultate zu erwarten sind. Außerdem wurden noch einige Kulturen von der Niere eines jungen Kaninchens benutzt. Einer aseptischen Autolyse wurde das rote Knochenmark der jungen Kaninchen und Stückchen von Hühnerembryonen unterworfen. Das rote Knochenmark wurde dem unteren Teile des Oberschenkels eines jungen Kaninchens, an der Grenze zwischen Epiphyse und Diaphyse steril entnommen, in Stückchen zerschnitten und in kleine Fläschchen mit Ringerscher Lösung oder mit 0·9prozentiger Kochsalzlösung getan. Die gut verstopften Fläschchen verblieben im Thermostaten bei 37 ^{0} 3 bis 5 bis 10 Tage lang. Nach der Beendigung des Versuches wurde die Sterilität des Autolysates durch Impfung von Agarröhrchen (aërob sowie anaërob) kontrolliert. Ebenso wurden die Stückchen des Hühnerembryos behandelt: bei einem 3 bis 5 Tage alten Embryo wurde das Kopfende abgeschnitten und der Rumpf in querer Richtung in einige Stücke, die wie oben autolysiert wurden, zerlegt. Zu der Behandlung des Gewebes wurde hierbei die vereinfachte Ringersche Lösung von Carrel benutzt: Chlornatrium 9·0 g, Chlorkalzium 0·25 g, Chlorkalium 0·42 g, destilliertes Wasser 1000 cc. — Zur histologischen Untersuchung von Lipoiden wurde gefärbt mit Sudan III, Nilblausulfat, Osmiumsäure, den Methoden von Ciaccio, von Dietrich, von Fischler und mit Neutralrot. Verarbeitung der Gewebskulturen: Fixierung mit Formoldämpfen in der Weise, daß das mit Wasser im Verhältnisse von 1:2 verdünnte Formol auf den Boden (nicht in die Rinne) des Gabritschewskischen Gefäßes gegossen, das Gefäß dann fest zugemacht und in den Thermostaten gesetzt wurde. Nachdem sich das Plasma genügend eingedickt hatte, wurden die Kulturen mit einem scharfen, flachen Messer von ihrem Platze auf dem Deckel des Gefäßes entfernt und zur weiteren Fixierung in 10prozentiger Formollösung aufbewahrt. War eine Kultur, bzw. die umgebende

Plasmaschicht recht dünn, so wurde sie im ganzen untersucht, nachdem sie kreuzförmig in vier Teile zerschnitten worden war. Ein Sektor wurde dann z. B. mit Sudan gefärbt, ein anderer mit Nilblausulfat, der dritte osmiert und der vierte nach Ciaccio behandelt. Waren die Kulturen zu dick oder nicht in den Schalen, sondern in Reagenzgläschen gezüchtet worden, so wurden dieselben entweder in Paraffin eingebettet oder mit dem Gefriermikrotome in Serienschnitte zerlegt und weiterhin wie oben untersucht. Autolysierte Stückchen wurden nach der Fixierung in 10prozentigem Formol in Paraffin eingebettet oder mit dem Gefriermikrotome geschnitten. — Sudan III wurde benutzt in der alkalischen alkoholischen Lösung nach Herxheimer, Nilblausulfatfärbung nach der Vorschrift von Schmorl mit nachfolgender Differenzierung in 1prozentiger Essigsäurelösung. Zur Osmierung wurde benutzt 1prozentige Osmiumsäurelösung, dann Ausspülen in Wasser, Einlegen in Alkohol. Außerdem wurden die nicht fixierten Gewebskulturen bzw. autolysierte Stückchen in 1prozentiger Neutralrotlösung zerzupft und dann in derselben erwärmt resp. mit gesättigter Neutralrotlösung in der Kälte behandelt. Bei den Methoden von Ciaccio, Dietrich und Fischler wurde nach den Originalvorschriften verfahren. Bei der Dietrichschen Methode wurden nach dem Chromieren die Präparate besonders sorgfältig in destilliertem Wasser ausgewaschen. Zur Nachfärbung nach Sudan III diente gewöhnlich Hämatoxylin. Bei der Methode von Ciaccio wurde ein Teil der Kulturen in üblicher Weise eingebettet, bei den Kulturen mit ganz dünner Plasmaschicht wurden die Präparate aber nicht eingebettet, sondern aus dem Xylol in absoluten und 95prozentigen Alkohol zurückgebracht und dann im ganzen mit Sudan gefärbt, in 50prozentigem Alkohol differenziert und in Glyzerin oder dem Gummisirup von Apáthy eingeschlossen. *Schiefferdecker (Bonn).*

d'Antona, S., Über die Entstehung der Bindegewebsfasern bei den atherosklerotischen Aortaverdickungen. Beitrag zur normalen Entwicklung des Bindegewebes (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 485—530 m. 2 Tfln.).

Als Untersuchungsmaterial dienten atherosklerotische Aorten mit nicht stark ausgesprochenen Entartungserscheinungen.

Fixiert wurden die Stücke in Formol, Zenkerscher Flüssigkeit, Sublimat, Alkohol und in der nach Meves abgeänderten Flemmingschen Flüssigkeit (Chromsäure, $^1/_2$prozentig mit 1 Prozent Kochsalzzusatz, 15 cc; Osmiumsäure 2prozentig, 4 cc; Essigsäure 3 bis 4 Tropfen).

Einzelne Stücke wurden mit dem Gefriermikrotom geschnitten, andere in Paraffin und Zelloïdin eingebettet. Neben den durch die ganze Dicke der Aortawand geführten Schnitten wurden auch viele

Oberflächenschnitte gemacht, die sich zum Studium des Gesamtbildes und der Einzelheiten am besten eignen.

Zur Färbung der kollagenen Fasern kam das van Giesonsche, Mallorische und Bielschowskysche Verfahren zur Verwendung. Die Mallorische Methode wurde in der vom Verf. vorgeschlagenen veränderten Form angewandt, nach der die Schnitte nach 5 oder mehr Minuten langem Verbleib in einer 0·1prozentigen sauren Fuchsinlösung 20 Minuten oder länger in einer aus 0·5 g Anilinblau, 2 g Orangegelb und 100 cc einer 1prozentigen Phosphormolybdänsäurelösung bestehenden Färbemischung belassen werden. Die Bielschowskysche Methode kam in der von Levi vorgeschlagenen Modifikation zur Verwendung. Außerdem wurden auch Präparate mit Heidenhains Eisenhämatoxylin zum Teil kombiniert mit Fuchsin gefärbt. Die in der abgeänderten Flemmingschen Flüssigkeit fixierten Stücke dienten zu der nach Meves mit Eisenhämatoxylin vorgenommenen Untersuchung auf Mitochondrien. Für die elastischen Fasern kamen Fuchselin und Kontrastfärbung mit Karmin oder nach Jores mit Pyronin, sowie Saffranelin-Hämateïn und Orceïn-Hämateïn zur Verwendung.

E. Schoebel (Neapel).

Unna, P. G., Zur Chemie der Zelle. VI. Epithelfasern (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, No. 15, p. 695—699).

Die neue Epithelfaserfärbung beweist, daß die Epithelfasern aus mehreren Eiweißkörpern zusammengesetzt sind, von denen die basischen mit Vorliebe Wasserblau, aber auch Orceïn und Eosin aufnehmen, während sich die saure Komponente mit Gentianaviolett, Safranin und anderen basischen Farben färben läßt. Die sauren Farben haften an den Fasern unmittelbar und überall. Sie bringen ein sehr vollständiges, aber kein sehr scharfes und daher befriedigendes Bild des Fasersystems hervor, da sie nur den basischen Teil der Fasern färben und gleichzeitig die protoplasmatische Umgebung der Fasern mit anfärben. Die basischen Farben dagegen haften nicht unmittelbar an den Fasern, sondern nur mittels einer nachfolgenden Beize. Sie färben nicht das ganze Fasersystem gleichmäßig, sondern einzelne Teile (Verbindungsbrücken, Knötchen, Spiralen) stärker als andere. Es folgt hieraus, daß die basischen Eiweiße hier, wie bei allen anderen bisher untersuchten Zellteilen (Protoplasma, Kern, Kernkörperchen) die gleichmäßige Grundlage der Fasern bilden, während die saure Komponente sich erst sekundär und in ungleichmäßiger Weise in ihnen gebildet hat. Verf. behandelt in der vorliegenden Arbeit zunächst die chemische Natur der sauren Komponente der Epithelfasern. Diese Aufgabe läßt sich zurzeit aber noch nicht in ihrem ganzen Umfange lösen. Wir müssen uns zunächst damit begnügen, durch abwechselnde Anwendung der Färbungsmethode und

möglichst zahlreicher Lösungsmittel zu einer mikrochemischen Wahrscheinlichkeitsdiagnose in betreff desjenigen sauren Anteils der Epithelfasern zu gelangen, dem wir ihre beste Darstellung mittels basischer Farben und Beizen verdanken. Als Material zu den Lösungsversuchen dienten ausschließlich verschiedene in absolutem Alkohol gehärtete spitze Kondylome. Es eignen sich dazu nur die größeren Exemplare, in deren mittlerer Stachelschicht die sehr voluminösen und nach allen Richtungen gleichmäßig ausgedehnten Epithelien vorkommen, in welchen sich die Fasern am besten und am stärksten färben lassen. Für die chemische Untersuchung modifizierte Epithelfaserfärbung: Die nach Alkohol in Zelloïdin eingebetteten Gewebsstücke werden in Schnitte von nicht weniger als 10 μ zerlegt, diese durch Alkohol und Äther von Zelloïdin befreit und durch absoluten Alkohol und Wasser in die Lösungsflüssigkeiten gebracht. Nachdem sie in diesen verschieden lange Zeit und bei verschiedenen Temperaturen verweilt haben, müssen sie sorgsam in Wasser ausgespült und von dem Lösungsmittel befreit werden. Sie kommen dann in die folgende Mischung: Wasserblau 1·0 g; Orceïn 1·0 g; Eisessig 5·0 cc; Glyzerin 20·0 cc; Alkohol 50·0 cc; Wasser ad 100 cc. Zu 20 Tropfen dieser vorrätig zu haltenden (bei Grübler in Leipzig vorrätigen) Mischung setzt man 30 Tropfen der folgenden Eosinlösung: Alkohollösliches Eosin 1·0 g; Alkohol, 60prozentig 100·0 cc. In dieser Wasserblau-Orceïn-Eosin-Mischung bleiben die Schnitte 10 Minuten, werden in Wasser abgespült und kommen dann direkt in die unter dem Namen Pappenheim-Unnasche Farbenmischung bekannte Karbol-Methylgrün-Pyronin-Mischung (bei Grübler vorrätig). Hierin verbleiben sie 20 Minuten; Abspülen in Wasser, Entwässerung durch absoluten Alkohol und dabei zugleich Befreiung von dem überschüssigen Eosin. Aufhellung in Bergamottöl, Einschluß in Balsam. Es ist besser, die Eosinlösung und die Wasserblau-Orceïn-Mischung getrennt vorrätig zu halten, da es hin und wieder vorkommt, daß, wenn die Präparate zu gleichförmig blau ausfallen, man zu der obigen Menge der Wasserblau-Orceïn-Mischung mehr als 30 Tropfen, nämlich 35 bis 40 zusetzen muß. — Der wichtigste Lösungsversuch, der stets zuerst vorgenommen werden sollte, ist der mit warmem und heißem Wasser. Diesem Reagens gegenüber verhält sich das „Faserrot“ anders als das Rot der Kernkörperchen und sauren Kerne. „Faserrot“ ist die basophile Substanz der Epithelfasern, die sich mit Pyronin rot färbt. „Kernkörperchenrot“ ist die „basophile Substanz der Kernkörperchen und sauren Kerne, die neben dem Nukleïn in diesen Gebilden vorkommt, und die aus Globulin besteht“. Es ist daher ausgeschlossen, daß das Faserrot mit dem Globulin des Kernkörperchenrotes identisch ist, obwohl beide Substanzen manche gemeinschaftliche Eigenschaften haben. Verf. geht nun näher auf die Beschaffenheit des Faserrotes ein, es muß dieserhalb auf das Original verwiesen werden. Es handelt sich bei dem Faserrote um ein nur ganz schwach abgebautes Eiweiß

und mit größter Wahrscheinlichkeit um eine Protalbumose. Diese würde also jenes saure Eiweiß sein, welches, indem es sich in der basischen Grundlage verschiedener Teile der Epithelfaser bildet, die Darstellung dieser Teile (Fasern, Spiralen, Knötchen) mittels basischer Farben-Beizen (Gentianaviolett-Jod, Safranin-Kalipyrochromat, Pyronin-Karbolsäure) ermöglicht. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Porcelli-Titone, F., Der Mitochondriaapparat der Geschwulstzellen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 58, 1914, H. 2, p. 237—249 m. 1 Tfl.).

Stücke von Tumoren wurden fixiert in der Flüssigkeit von Maximow, die in folgender Weise modifiziert war: Zenkersche Flüssigkeit ohne Essigsäure 5 cc, Kaliumbichromat, 5prozentige Lösung, 5 cc, Osmiumsäure 1·5 bis 2 cc, Formol 1·5 bis 2 cc; oder es wurden nach der Regaudschen Methode fixierte und gebeizte oder auch in der Flüssigkeit von Flemming-Benda fixierte Stücke verwendet. Die Schnitte der mit Osmium behandelten Stücke wurden gebleicht nach der Methode von Rubaschkin und gefärbt mit Eisenhämatoxylin; die Schnitte der nach der Regaudschen Methode fixierten Stücke wurden entweder mit Eisenhämatoxylin oder mit der Galeottischen Originalmethode oder nach der Modifikation von Papadia gefärbt. Diese Fixierungs- und Färbungsmethoden ergaben ziemlich gute und übereinstimmende Resultate. Die Fixierung in dem Gemische von Maximow mit der Färbung in Eisenhämatoxylin war häufig in bezug auf die Feinheit der Bilder den anderen Methoden etwas überlegen. Anderseits bildet die Färbung nach der Methode von Galeotti-Papadia bei Stücken, die nach der Methode von Regaud fixiert sind, den Vorteil, daß die Mitochondriabildungen deutlicher und klarer hervortreten. Diese Methode hat aber den Nachteil, daß mit der Zeit Entfärbung eintritt. Für das gute Gelingen der Präparate kommt es hauptsächlich auf die Fixierung an. Es wurden daher Stückchen ein und desselben Tumors auf verschiedene Weise fixiert, indem man die Zusammensetzung der Fixierungsflüssigkeit und auch die Dauer ihrer Einwirkung etwas variierte. Für die mit der Methode von Regaud behandelten Stücke ist die Dauer der Beizung in Kaliumbichromat von Wichtigkeit. Diese Dauer kann im allgemeinen nicht a priori festgestellt werden. Bei einem Präparate, in welchem verschiedene Zelltypen vorkommen, können sich diese in bezug auf die Färbung der Mitochondria verschieden verhalten. So schien der Mitochondriaapparat der Bindegewebszellen sich im allgemeinen leichter zu färben als der der Epithelzellen. Unter den neoplastischen Bindegewebselementen färbten sich die Riesenzellen von zwei Sarkomen des Knochenmarkes am leichtesten. Es müssen also kleine chemische Unterschiede oder Unterschiede in der physikalischen Zusammensetzung zwischen Mitochondrien verschiedener Zellen oder ähnlicher Zellen in verschiedenen Lebensphasen vorhanden sein. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Pedaschenko, D., Die Entwicklung der Augenmuskelnerven (Anat. Anzeiger Bd. 47, 1914, No. 6, 7, p. 145—180 m. 9 Abb.).

Hauptsächlich wurden untersucht verschiedene Saurier (Lacerta, Seps, Mabuia, Calotes, Draco, Hemidactylus, Ptychozoon), nebenbei auch einige Squaliden (Pristiurus, Scyllium). Neben den allgemein üblichen embryologischen Methoden wurde auch eine spezifische Nervenimprägnationsmethode angewendet, die von S. Paton ausgearbeitete Abänderung der Bielschowskyschen Methode (Mitteil. d. zool. Station Neapel Bd. 18, 1907, H. 2, 3). Wies diese Methode auch unverkennbare Vorteile für die Nervenuntersuchung im ganzen auf, so ist sie doch mehr eine anatomische als eine embryologische. Bei Embryonen mit vorgeschrittener histologischer Differenzierung werden die Präparate im allgemeinen vorzüglich. Je jünger aber die Entwicklungsstadien sind, desto unsicherer wirkt die Methode, desto mehr schrumpft das Material und desto brüchiger wird es. Die Plasmaleiber der Mesenchymzellen schrumpfen besonders stark und ihre Kerne erhalten unregelmäßige Formen. Die Plasmodesmen zerreißen und zerfallen zu spärlichen Plasmaklümpchen. Das ganze Bild erhält einen skizzenhaften Charakter. Auf diesem Hintergrunde treten die Neurofibrillenbündel desto schärfer hervor, aber ihre wirklichen Beziehungen zu den Zellen sind nicht mehr zu erkennen. Sie scheinen meistens nackt zu sein und frei durch Gewebslücken hinzuziehen. Allein gebraucht muß diese Methode unbedingt zu irrigen Schlüssen führen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Hartmann, A., Neue Untersuchungen über den lymphoiden Apparat des Kaninchendarmes (Anat. Anzeiger Bd. 47, 1914, No. 3, 4, p. 65—90 m. 9 Figg. im Text).

Von den eben geworfenen Kaninchen (aus drei verschiedenen Würfen) wurde der Darm im ganzen fixiert in Zenker-Formol und Carnoyscher Flüssigkeit (6 : 3 : 1) und nach der Härtung in Alkohol wurden die betreffenden Darmabschnitte herauspräpariert, eingebettet, nach verschiedenen Richtungen in Serien zerlegt und nach den gebräuchlichen Methoden zur Darstellung lymphoider Organe gefärbt. Der Processus vermiformis des erwachsenen (3 Monate alten) Kaninchens wurde samt dem Inhalte fixiert, um zu vermeiden, daß durch vorheriges Abwaschen der Schleimhautoberfläche etwa anhaftende weiße Blutzellen mit fortgespült würden. Für die Tonsillen der Iliocoecal-Klappe ist dies wegen der Massigkeit des Blinddarminhaltes nicht möglich. Es blieb aber trotz flüchtigen Abschwenkens in physiologischer Kochsalzlösung noch genügend viel von dem Inhalte in den Krypten der Schleimhaut hängen, um über die zellulären Bestandteile desselben Aufschluß geben zu können. Die zu Flachschnitten vor der Fixierung

auf Korkrähmchen aufgespannte Schleimhaut wurde vorher sorgfältig gereinigt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ranson, S. W., The structure of the vagus nerve of man as demonstrated by a differential axon stain (Anat. Anzeiger Bd. 46, 1914, No. 19, p. 522—525 m. 1 Fig.).

Um die zahlreichen marklosen Nervenfasern in den peripheren Nerven und so auch im Vagus des Menschen zu demonstrieren, hat Verf. die folgende Modifikation der Pyridin-Silber-Methode von Cajal angewendet. Man läßt das Tier verbluten, das betreffende Gewebsstück wird schnell entnommen und für 48 Stunden in absoluten Alkohol mit Zusatz von 1 Prozent Ammoniak gebracht, in destilliertem Wasser abgespült, für 24 Stunden in Pyridin gelegt, 24 Stunden lang in häufig gewechseltem destilliertem Wasser ausgewaschen, für 3 Tage bei 35° in eine 2prozentige Lösung von Silbernitrat gebracht, in Wasser abgespült und für einen Tag in eine 4prozentige Lösung von Acidum pyrogallicum in 5prozentiger Formollösung gebracht. Paraffinschnitte. Die Resultate können mitunter verbessert werden dadurch, daß man das ausgeblutete Tier mit 95prozentigem Alkohol, der 1 Prozent Ammoniak enthält, durch die Arterien injiziert, bis das Gewebe ganz durchdrungen ist. Dann Ausschneiden der Stücke und Einlegen in absoluten Alkohol mit Zusatz von Ammoniak.

Schiefferdecker (Bonn).

Martynoff, W., Nervenendapparate in der Brustwarze der Frau und bei Säugetierweibchen (Folia neurobiologica Bd. 8, 1914, No. 3, p. 249—263 m. 2 Tfln.).

Hauptsächlich wurde benutzt die intravitale Nervenfärbung mit Methylenblau, außerdem die Färbung nach Golgi und die Imprägnation mit Gold. Außer dem Menschen wurden untersucht: Affen, Hunde, Katzen, Kaninchen, Ratten, Schweine, Schafe, Kühe und Pferde. Letztere vier Tiere besonders zahlreich, da sie ihrer Größe nach sehr geeignet sind und in beliebiger Anzahl und in frischem Zustande erhalten werden konnten. Letzteres ist besonders wichtig, da die Endapparate der Brustwarze sich schwer färben. Von Frauen wurden frisch ausgeschnittene Brustwarzen nach Mammaamputationen infolge von Karzinom untersucht. Färbungen an Brustwarzen von Leichen (3 bis 4 Stunden nach dem Tode) ergaben keine Resultate. Aus Stücken der Brustwarzen wurden mit dem Rasiermesser möglichst feine Schnitte hergestellt, auf Objektträgern mit schwachen Methylenblaulösungen ($^1/_{18}$ bis $^1/_{36}$ Prozent) gefärbt, dann fixiert in 8prozentiger Lösung von molybdänsaurem Ammoniak. Die fixierten Schnitte wurden ausgewaschen in destilliertem Wasser, entwässert und in dickem Xylol-Damarlack eingeschlossen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Kutchin, H. L., Studies on the peripheral nervous system of Amphioxus (Proc. Amer. Acad. of Arts a. Scienc. vol. **49**, 1913, no. 10, p. 571—624 w. 8 pl.).

Untersucht wurde Branchiostoma caribaeum, teilweise intravital mit Methylenblau, teilweise mit Goldchlorid und mit Golgi-Methoden. Die Methoden wurden mannigfach variiert, um Details herauszubringen, und ergaben ausgezeichnete Resultate. Fixiert wurde in verschiedenen Flüssigkeiten, besonders günstig erwies sich eine 10prozentige Formollösung. Ebenso wurde behandelt Branchiostoma lanceolatum. Die besten Imprägnationen von oberflächlichen und Eingeweidenerven wurden erhalten durch Einbringen der lebenden Tiere in Seewasser, das mäßig stark dunkelblau gefärbt war durch Zusatz einer 0·5- bis 1prozentigen Lösung von Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung. Die Seewassermischung darf niemals opak sein. Wahrscheinlich bewirkt die geringe Menge von Salz in der Mischung einen Epithelverlust und erlaubt so eine direkte Einwirkung des Methylenblaues. Solche Präparate sind daher nicht brauchbar zum Studium der sensiblen Nervenendigungen in der Haut. So behandelte Präparate verlieren an Stärke der Färbung nicht vor 2 bis 3 Stunden. Es ist sehr wichtig, die Präparate der Luft auszusetzen, die Zeitdauer für die Färbung der einzelnen Nerven kann nur durch Kontrolle unter dem Mikroskope festgestellt werden. Das Präparat muß während der Beobachtung mit der Methylenblaumischung befeuchtet werden. Fixiert wurde gewöhnlich mit pikrinsaurem Ammoniak, der Zusatz von wenigen Tropfen einer 1prozentigen Osmiumsäurelösung zu je 100 cc der Lösung von pikrinsaurem Ammoniak erwies sich als sehr günstig für die Erhaltung der Färbung. So behandeltes Material, das in der gebräuchlichen Mischung von pikrinsaurem Ammoniak und Glyzerin aufgehoben und gut gegen Licht geschützt war, war noch ausgezeichnet erhalten nach zwei Jahren, während andere nicht mit Osmiumsäure behandelte Präparate schon nach einem Jahre unbrauchbar waren. Die Goldchloridmethode von Hardesty (Neurological technique etc. Chicago and London 1902) nach Fixierung in 10prozentiger Formollösung war geeignet, motorische Fasern und ihre Endigung darzustellen. Verf. empfiehlt die Anwendung dieser Methode wegen der genauen Fixierung und dem verhältnismäßig seltenen Vorkommen von Kunstprodukten. Die Einwirkung des Goldchlorids ist indessen auch bei dieser Methode ebenso unsicher wie bei den anderen. — Die Methode von Mallory für das Studium des Zentralnervensystems (Journ. exper. med. vol. **5**, 1900, No. 1, p. 15—20) war bei Amphioxus brauchbar für Darstellung des peripheren Nervensystemes. — Die starke Flüssigkeit von vom Rath ergab nur für das Zentralnervensystem etwas. — Die verschiedenen Golgi-Methoden zur Silberimprägnierung und ihre verschiedenen Modifikationen waren alle brauchbar für verschiedene Teile des Nervensystemes. Die schnelle Methode ist im allgemeinen die sicherste. — Pikrokarmin

nach Vorbehandlung mit sehr verdünnter Osmiumsäure ist nur für die dünnsten Gewebe brauchbar. Strukturen, welche ziemlich tief unter der äußeren Oberfläche liegen, werden in keiner Weise fixiert und sind daher für die Untersuchung unbrauchbar. — Eine elektrische Nernst-Lampe oder gut adjustiertes direktes Sonnenlicht ließen Nerven hervortreten, die mit gewöhnlicher Beleuchtung nicht zu sehen waren. Es gilt dies besonders für Methylenblaupräparate des ganzen Tieres, welche Geflechte zwischen dorsalen Nerven zeigen und für dicke Golgi-Präparate. Bei einer starken Beleuchtung kann man die Nerven in den dickeren Teilen des Körpers mit überraschender Klarheit in ihrer Lage sehen. Diese Methode hat den Nachteil, die Augen schnell zu ermüden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Leschke, E., Untersuchungen über die Funktion der Niere (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 27, p. 1498—1499).

Verf. hat neue Versuche angestellt, um nachzuweisen, welche verschiedenen Stoffe durch die verschiedenen Abteilungen der Harnkanälchen ausgeschieden werden. Er hat zu diesem Zwecke mit Hilfe von eigenen histochemischen Methoden versucht, die normalen Harnbestandteile, wie das Kochsalz, den Harnstoff, die Phosphate, die Harnsäure und Purinkörper in der Niere nachzuweisen. Der Nachweis des Kochsalzes geschieht durch Einlegen dünner Schnitte von frisch herausgenommenen Nieren von Menschen oder Tieren in salpetersaure Lösung von Silbernitrat, welche nur die Chloride fällt, die Phosphate dagegen in Lösung hält, und durch Reduzieren des Silberchloridniederschlages mit einem Hydrochinonentwickler. Der Harnstoff wird mit einer salpetersauren Lösung von Quecksilberoxydnitrat gefällt, und der Niederschlag in den Paraffinschnitten durch Schwefelwasserstoffwasser in braunschwarzes Quecksilbersulfid verwandelt. Die Harnsäure und die Purinkörper werden durch ammoniakalische Silbernitratlösung gefällt, wobei die Chloride und Phosphate in Lösung bleiben. Die Reduktion geschieht auch hier nach Auswaschen der Silbernitratlösung durch einen Hydrochinonentwickler. Die Phosphate lassen sich entweder mit neutraler Silbernitratlösung zusammen mit den Chloriden fällen, oder aber dadurch isoliert darstellen, daß man die Nierenscheiben in verdünnte Urannitratlösung einlegt und den weißgelben Niederschlag von Uranphosphat durch Behandlung der Paraffinschnitte mit salzsaurer Lösung von Ferrocyannatrium in rotbraunes Uraniferrocyannatrium überführt. Die Glomeruli enthalten entweder gar nichts von diesen Salzen, oder so minimale Spuren, wie sie höchstens der Konzentration einer physiologischen Salzlösung entsprechen. Die Epithelzellen der Harnkanälchen dagegen und die Kanälchen selbst sind geradezu vollgepfropft mit den histochemisch sichtbar gemachten Harnbestandteilen.

Die Hauptausscheidung geschieht in den gewundenen Kanälchen, aber auch die Übergangsteile zu den geraden Kanälchen zeigen noch eine deutliche Sekretion.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Ponomarewa, A., Über den Ursprung der Fettsubstanzen in der Nebennierenrinde (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 59, 1914, H. 2, p. 349—370 m. 1 Tfl.).

Ausführung der Versuche an weißen Mäusen, die besonders brauchbar sind, da sie wenig Raum, keine besondere Pflege beanspruchen und gerne alle diejenigen Nahrungsmittel fressen, die ihnen zu Versuchszwecken verabreicht werden. Die Versuche bestanden hauptsächlich im Studium des mikroskopischen Baues der Nebennierenrinde bei verschiedenen Ernährungsverhältnissen der Versuchstiere, wobei auf die Veränderungen des Gehaltes der betreffenden Teile an Fettsubstanzen besonders geachtet wurde. Je nach dem Charakter des Versuches wurden die Tiere in einem bestimmten Augenblicke durch Äthernarkose getötet, die Leichen wurden sofort seziert und die Sektionsresultate aufgezeichnet. Zur Untersuchung wurde stets die linke Nebenniere verwendet, während die rechte in einer 5prozentigen Formollösung zur Reserve aufbewahrt wurde. Diese wurde nur benutzt, wenn von der linken Nebenniere durch Verlust oder zufällige Verletzung keine genügende Anzahl von Schnitten angefertigt werden konnte. Die ausgeschnittenen Nebennieren wurden sofort 24 Stunden lang in 5prozentiger Formollösung fixiert. Dann ließ man die linke Nebenniere nach Abspülen in Wasser frieren und zerlegte sie ungefähr bis zur Hälfte in Schnitte, während die zurückgebliebene Hälfte nach Ciaccio fixiert und in Zelloïdin eingebettet wurde. Die auf dem Gefriermikrotome hergestellten Schnitte von 8 bis 10 μ Dicke wurden in einigen Fällen ungefärbt untersucht, gewöhnlich aber nach den folgenden Methoden gefärbt: 1) mit Sudan III, 2) nach Smith-Dietrich, 3) mit Nilblausulfat, 4) mit Neutralrot. Die Zelloïdinschnitte wurden nach der Methode von Ciaccio mit Sudan III und Eisenhämatoxylin gefärbt. Alle diese Färbungen wurden speziell zum Zwecke der Untersuchung der Verteilung und Fortbewegung in der Nebennierenrinde sowohl aller Fettsubstanzen (Färbung mit Sudan III) als auch der einzelnen Typen derselben angewendet, von denen bei den benutzten Färbemethoden unterschieden werden konnten: neutrale Fette und Fettsäuren (Färbung mit Nilblausulfat und Neutralrot) und Fettsubstanzen höherer Ordnung wie Phosphatide, Cerebroide und Cholesterinmischung (Methoden von Smith-Dietrich, Ciaccio).

Schiefferdecker (*Bonn*).

Hauschild, M. W., Zellstruktur und Sekretion in den Orbitaldrüsen der Nager. Ein Beitrag zur Lehre von den geformten Protoplasmagebilden (Anat. Hefte, H. 152 [Bd. **50**, H. 3], 1914, p. 533—629 m. 6 Tfln.).

Frische, überlebende Gewebsstücke wurden nach dem Herausnehmen aus der Orbita in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig mechanisch isoliert und sofort mikroskopisch untersucht. Andere isolierte Zellen wurden unter Zusatz verschiedener Farbflüssigkeiten: Kristallviolett, Neutralrot, Sudan, Hämatoxylin, oder Reagenzien: Alkohol, Chloroform, Osmiumsäure während der Einwirkung mikroskopisch betrachtet. Schließlich wurden Versuchstiere mit 1prozentigen wässerigen Lösungen von Trypanblau und Kristallviolett intra vitam injiziert, 6 bis 24 Stunden nach der Injektion getötet, und deren Augendrüsen frisch oder fixiert nach Anwendung der Gefriermethode oder nach Paraffineinbettung untersucht. Andere Versuchstiere wurden mehrere Tage lang mit Sudan gefüttert. Mäuse z. B. mit Speck, der durch konzentrierte alkoholische Sudanlösung stark gefärbt war, dann getrocknet und von den Tieren gefressen und gut vertragen wurde. Die Drüsen wurden dann ebenfalls untersucht. — Zur Fixierung wurde der Obitalinhalt des frisch getöteten lebenswarmen Tieres im ganzen herausgenommen, kleinste Stückchen der Harderschen und der Tränendrüse wurden mit der Schere abgetrennt und sofort in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Zur Fixierung wurden verwandt: I. Gruppe: Chrom-Osmiumgemische: Flemmingsche Flüssigkeit, modifiziert nach Altmann, Benda und Meves, kombiniertes Müller-Formol-Osmiumverfahren nach Schridde. II. Gruppe: Chromfreie Osmiumgemische: Osmiumsäure in 1- und 2prozentiger Lösung; Osmiumsäure-Hämatoxylin-Methode nach O. Schultze, Herrmannsches Gemisch. III. Gruppe: Chromgemische: Orthsche, Müllersche, Zenkersche Flüssigkeit (mit wenig Eisessig), 1prozentige Chromsäure, 4prozentige Lösung von Kaliumbichromat (Fixierung während 1 bis 3 Wochen unter allmählicher Verdünnung der Chromlösung), die Regaudschen Flüssigkeiten (Duesberg, Plastosomen, Apparato reticolare interno etc. [Anat. Hefte Abt. 2, Ergebn.-Bd. **20**, 1912]), das Gemisch von Dubreuil, das von Ciaccio mit nachfolgender Lipoidfärbung. IV. Gruppe: Fixierungsflüssigkeiten ohne Chrom und Osmium: Formol 5- und 10prozentige Lösung, Sublimat und Kochsalz, Gemisch von Carnoy. — Diese Einteilung der Fixierungsflüssigkeiten in bestimmte Gruppen kann darauf hinweisen, daß die in einer Gruppe zusammengefaßten Gemische fast gleiche Wirkung, wenigstens auf die Fixierung der Fettverbindungen, hatten. Als Färbungsmethoden kamen in erster Linie in Betracht die von den betreffenden Autoren gleichfalls angewandten Eisenhämatoxylinmethoden nach Heidenhain, Benda und O. Schultze, ferner wurden zur besseren Scheidung des osmierten Fettes von den chromatophilen Gebilden

die ALTMANNsche Fuchsin-Pikrinsäure-Methode (ALTMANN, Die Elementarorganismen, Leipzig 1890), die BENDAsche Kristallviolettmethode (BENDA, Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. 1910) und das Verfahren von PIANESE verwendet. Zum Vergleiche wurden auch Augendrüsen, Speicheldrüsen, Niere und Pankreas derselben und verschiedener anderer Säugetiere mit den hauptsächlichsten der angegebenen Methoden untersucht. *Schiefferdecker (Bonn).*

Löwenfeld, W., u. Jaffé, R. H., Beiträge zur Kenntnis der LANGERHANSschen Inseln im Pankreas (VIRCHOWS Arch. Bd. **216**, 1914, H. 1, p. 10—25 m. 1 Tfl.).

Untersucht wurde das Pankreas des Kaninchens. Durch die Anwendung der Färbung von PAPPENHEIM-UNNA, welche allen anderen Färbungen überlegen ist, ist ein genaueres Studium der Morphologie der Inseln möglich. Keine andere Färbung liefert auch nur annähernd einen so scharfen Unterschied zwischen den beiden Anteilen des Pankreas. Die Vorbehandlung der Präparate geschah nach den Angaben der Verff. in ihrer früheren Arbeit (VIRCHOWS Arch. Bd. **210**, 1912, p. 419), dadurch wurde die starke Schrumpfung vermieden, die KOCH durch die reine Fixierung mit Alkohol erhielt. Gerade bei Untersuchungen, die so leicht zu Trugschlüssen Veranlassung geben, wie diese, ist eine einwandfreie Technik Hauptbedingung.

Schiefferdecker (Bonn).

Mita, G., Physiologische und pathologische Veränderungen der menschlichen Keimdrüse von der fötalen bis zur Pubertätszeit, mit besonderer Berücksichtigung der Entwicklung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **58**, 1914, H. 3, p. 554—614 m. 6 Figg. im Text).

Herstellung der Schnitte nach der Gefriermethode und nach Paraffineinbettung. Die Hälfte eines Hodens wurde auf die eine, die andere Hälfte auf die andere Weise verarbeitet. Bei der Gefriermethode wurde die ganze Hälfte immer nach der Querschnittsfläche des Organes in Schnitte zerlegt, um möglichst von verschiedenen Stellen des Organes eine Übersicht zu bekommen. Davon wurden jedesmal wenigstens 8 bis 10 Schnitte gefärbt, deren Dicke 15 μ betrug. Die Paraffinschnitte, von 5 bis 8 μ Dicke, wurden zum Vergleiche mit den Gefrierschnitten, hauptsächlich aber zur genauen Untersuchung der einzelnen Zellbestandteile benutzt. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, nach VAN GIESON, Fettfärbung mit Sudan III und Elastikafärbung. Zur Darstellung der Blutzellen wurden benutzt: das kombinierte MAY-GRÜNWALD-GIEMSA-Verfahren, die Indophenol-Oxydase-Reaktion nach SCHULTZE und Methylenblaufärbung. Bei dem Suchen nach Spirochäten wurde die bekannte Methode von LEVADITI

angewendet. Nötigenfalls wurden noch benutzt die Berlinerblau-Eisenreaktion und die Fibrinfärbung mit Anilinwasser-Gentianaviolett.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Berenberg-Goßler, H. V., Über Herkunft und Wesen der sogenannten primären Urgeschlechtszellen der Amnioten (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, No. 9, 10, p. 241—264 m. 9 Figg. im Text).

Hauptsächlich wurde zur Untersuchung verwendet Lacerta agilis, ferner Huhn und Ente. Verf. zog Entenembryonen den Hühnerembryonen vor, weil sie im ganzen größere Zellen besitzen und sich überhaupt für die Untersuchung histologischer Details besser eignen. Was die Technik anlangt, so erwies sich als recht schwierig, aber sehr wichtig eine geeignete Fixierung des Entoderms junger Stadien, bei denen der Schluß des Darmrohres noch nicht erfolgt ist. Das Entoderm der Area pellucida besteht bei ihnen zum überwiegenden Teile aus dotterreichen, sehr empfindlichen Zellen. Der Dotter scheint, besonders in den Stadien, in denen der Dottergehalt der Embryonalzellen überhaupt im starken Abnehmen begriffen ist, sehr leicht löslich zu sein. Sogar bei Embryonen, die 48 Stunden in dem von Meves modifizierten Flemmingschen Gemische fixiert worden waren, zeigten sich die Dotterkörner zum größten Teile aufgelöst, so daß man nur ihre Negative in Gestalt von Hohlräumen im Plasma sieht. Wenn die Fixierung des Entoderms der Area pellucida nicht tadellos gelungen ist, so scheinen die dem Mesoderm zugewandten Teile der Zelleiber bei Auflösung der Dottersubstanzen größtenteils abgestoßen zu sein. Die „Urgeschlechtszellen“ sind dann auf Grund ihrer Charaktere noch deutlich unterscheidbar, ihre Beziehungen zu den benachbarten Entodermzellen sind aber unklar. Am besten war eine mindestens 12 Stunden dauernde Fixierung in dem Gemische von Helly, dem, um eine elektivere Färbung der Kerne zu erreichen, 3 Prozent Eisessig zugesetzt waren. Durch die lange Dauer der Fixierung werden die Entodermzellen wahrscheinlich resistenter gegen die Nachbehandlung mit Alkohol. Außerdem wurde fixiert mit: Zenker-Formol ohne Eisessig, mit dem Gemische von Bouin, von Meves und mit Pikrinsublimat. Eingebettet wurde ausschließlich nach der Kollodium-Paraffinmethode von O. Schultze. Die Schnittdicke betrug wegen der Größe der Zellen meist nicht weniger als 7·5 μ. Die nach Meves fixierten Embryonen wurden 6 μ dick geschnitten. Um die Kerne der Urgeschlechtszellen in geradezu elektiver Weise rot gefärbt zu erhalten, genügt eine Färbung mit Hämatoxylin (Delafield) und alkoholischem Eosin. Wichtig ist nur, daß die Wirkungen der beiden Farbstoffe richtig kompensiert werden. Um dies zu erreichen, war es, wenigstens bei dem Freiburger Leitungswasser nötig, die Schnitte mit Natronwasser kräftig zu bläuen.

Eosin wurde verwendet in 1prozentiger Lösung in 90prozentigem Alkohol. Die Objektträger verbleiben darin sehr kurze Zeit und werden dann nach kurzem Abspülen in Alkohol von 96 Prozent in absoluten Alkohol übergeführt. Die bisher als Urgeschlechtszellen beschriebenen Gebilde werden bei dieser Methode geradezu elektiv gefärbt: der wabig gebaute, in jungen Stadien vielfach leuchtend rot gefärbte Dotterkörner enthaltende Zelleib ist hellrosa. Die meistens etwas unregelmäßig geformten Kerne heben sich von den blauen Kernen der anderen Zellen durch ihre rote Farbe ab, d. h. ihr Chromatin ist sogenanntes Oxychromatin. Gewöhnlich zeigen sie einen blau gefärbten Nukleolus. *Schiefferdecker (Bonn).*

Hoven, H., Histogénèse du testicule des mammifères (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, H. 3, 4, p. 90—109 m. 7 Figg.).

Es wurden untersucht Hoden von Rattenembryonen und von jungen Ratten vom Beginne der Organbildung an bis zur Pubertät. Ferner eine Anzahl von Hoden von Kaninchen- und Hundeembryonen. Fixierung in den Flüssigkeiten von Flemming und Hermann oder in Sublimat. Die 5 μ dicken Schnitte wurden gefärbt mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain oder mit der Dreifachfärbung nach Winiwarter und Sainmont (Arch. de Biol. 1909). Zur Untersuchung der Mitochondria wurde die von Meves modifizierte Bendasche Methode (Meves, Arch. f. mikrosk. Anat. 1908) und die Methode von Regaud (Arch. d'Anat. micr. 1910) benutzt. Bei der Untersuchung der Präparate ist Verf. dem Rate von Regaud gefolgt und hat in den verschiedenen Stadien der Entwicklung des Hodens die Zahl, die Lage und die Form der Geschlechtszellen auf den Querschnitten, Längsschnitten und Tangentialschnitten genau verzeichnet. Es ist dies die beste Methode, um den Bau des Hodens zu untersuchen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ceni, C., Spermatogenesi aberrante consecutiva a commozione cerebrale (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **38**, 1913, p. 8—29 m. 2 Tfln.).

Die Hoden der durch operativen Eingriff in ihrer Hirnfunktion geschädigten Versuchstiere (Hahn und Hund), wurden in Alkohol, Formol, Bouinscher Flüssigkeit oder Flemmingschem Gemisch fixiert. Die Färbung der Schnitte erfolgte mit Alaunkarmin, Eisenhämatoxylin, Eosin und dann vor allem mit Farben, die das ruhende Chromatin von dem aktiven gut unterscheiden lassen, wie dem Biondi-Heidenhainschen Gemisch, dem von Pianese (0·05 g Malachitgrün, 0·1 g Säurefuchsin und 0·01 g Martiusgelb gelöst in 150 cc destilliertem Wasser und 50 cc 96prozentigem Alkohol) und einem eigenen Gemisch aus 1 Teil Alaunhämatoxylin und 3 Teilen einer gesättigten Lösung von basischem Fuchsin. Die Färbdauer in letzterem hat 15 bis 20 Minuten oder länger zu betragen, hierauf werden die Präparate

rasch in 95prozentigem Alkohol differenziert, 15 bis 20 Minuten in Wasser gewaschen, sehr rasch in absolutem Alkohol entwässert und dann nach Aufhellung in Xylol in Balsam eingeschlossen. Im gelungenen Präparat sind das Cytoplasma violett, das ruhende Chromatin dunkelblau und die Nucleoli, die Mitosen und Spermaköpfe rubinrot gefärbt. *E. Schoebel (Neapel).*

Hertwig, G., u. Hertwig, P., Kreuzungsversuche an Knochenfischen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 87, 1914, Abt. 2, p. 49—88 m. 1 Tfl.).

Zu den Versuchen kamen die Eier von drei Gobiusarten, G. capito, G. jozo und G. minutus, sowie diejenigen von Crenilabrus pavo und C. melops zur Verwendung, und außer dem Sperma der genannten Arten auch das von Crenilabrus tinca, Box boops und Smaris alcedo. Die Gobiiden sind im März und April geschlechtsreif. Ihre Spermatozoën zeichnen sich, im Gegensatz zu anderen Knochenfischen, durch ihre große, im Seewasser lange anhaltende Beweglichkeit aus. Die durch Zerzupfen der Hoden in einigen Tropfen Seewasser gewonnene Samenflüssigkeit konnte in der feuchten Kammer lange Zeit unverändert aufgehoben werden. Selbst nach 4 Stunden waren die Spermien, in frisches Seewassser gebracht, noch tumultuarisch beweglich. Auch bei stärkerer Verdünnung mit Seewasser hielt die Bewegung bisweilen 1 Stunde an. — Die Eier der Gobiiden sind von einer elastischen, derben, aber durchsichtigen Hülle umgeben. Bei der Ablage werden die Eier an Steinen usw. festgeklebt. — Da die Gobiiden zu den Teleostiern gehören, die ihre Geschlechtsprodukte durch besondere Kanäle entleeren, konnten, um die künstliche Befruchtung auszuführen, nicht, wie sonst üblich, Eier und Samen durch Abstreichen der Fische erhalten werden; die Tiere mußten vielmehr durch einen Schnitt durch das Halsmark getötet und Ovarien und Hoden frei präpariert werden. Zur Unterscheidung der Geschlechter kommt hierbei sehr zustatten, daß Männchen und Weibchen an der Form der hinter dem After befindlichen Genitalpapille kenntlich sind; beim Männchen ist diese lang und spitz, beim Weibchen kürzer und breiter. — Nach Möglichkeit wurde frisch eingefangenes Material benutzt, da besonders die Eier der Weibchen, die im Aquarium am Ablegen gehindert waren, leicht überreif wurden; die Männchen dagegen waren noch nach längerer Gefangenschaft brauchbar. — Behufs der künstlichen Befruchtung wurden die Ovarien geöffnet, die Eier denselben mit zwei Nadeln entnommen und diese auf einen etwas angefeuchteten Objektträger aufgesetzt. Reife Eier sind an der deutlich abgegrenzten Ölblase und daran, daß sie am feuchten Glas festhaften, zu erkennen. Die mit etwa 30 Eiern belegten Objektträger wurden in eine flache Glasschale gebracht und durch Aufspritzen von verdünntem Sperma befruchtet. Nach einigen Minuten wurde dann

soviel frisches Seewasser in die Schale gegeben, daß die Eier vollständig damit bedeckt waren. Nach Ablauf von etwa 1 bis 1 1/2 Stunden begann die erste Teilung sichtbar zu werden, der bald darauf die zweite und dritte folgte. Zur weiteren Entwicklung wurden nun die Objektträger in Schalen mit fließendem Wasser gebracht. Unter diesen Bedingungen verlief bei gesundem Eimaterial die Entwicklung bis zum Ausschlüpfen bei fast allen Individuen gleichmäßig und normal. Bei überreifen oder sonst beschädigten Eier traten zwar meistens die ersten Teilungen ebenfalls auf, aber später zeigten sich allerhand Entwicklungsstörungen.

Die neben den Gobiusarten verwandten Eier von Crenilabrus besitzen ebenfalls die für Versuchszwecke günstige Eigenschaft, mittels der Hülle am Glase festzukleben und haben noch den Vorzug größerer Durchsichtigkeit, man kann sogar in dem sich teilenden Ei die Furchungskerne erkennen. Für die Befruchtung wurden die einem frisch gefangenen Weibchen abgestrichenen Eier in einer trockenen Schale gesammelt und mit verdünnter Samenflüssigkeit überspritzt. Dann wurde während der weiteren Entwicklung durch die Schalen fließendes Wasser durchgeleitet. Selbstverständlich kamen bei sämtlichen Befruchtungen alle Vorsichtsmaßregeln, die beobachtet werden müssen, um eine Verunreinigung mit nicht gewünschtem Sperma zu vermeiden, in Anwendung.

Als Fixierungsmittel besonders der Frühstadien diente ZENKERsche Flüssigkeit. Die Eier wurden mit ihren Hüllen in dieselbe eingelegt und 24 Stunden darin gelassen, gut ausgewaschen und in schwachem Formolwasser aufgehoben. Vor der weiteren Verarbeitung erfolgte dann unter der Lupe mit Nadeln das Abpräparieren der Hüllen von den Eiern. Schließlich wurden sie möglichst schnell, um das Hart- und Brüchigwerden des Dotters zu verhindern, durch die Alkoholreihe in Jodalkohol und in 95prozentigen Alkohol gebracht, mittels Bergamottöl in Paraffin eingebettet und nach dem Schneiden mit Magentarot-Pikroindigkarmin gefärbt. Ältere Gobiusembryonen wurden schon vor der Fixierung lebend von ihren Hüllen befreit, was meist sehr leicht gelang, da die Tierchen durch Eigenbewegung nachhalfen. Als Fixierungsmittel für spätere Stadien dienten auch Pikrin-Eisessig-Sublimat, Chromsäure-Sublimat und FLEMMINGsche Flüssigkeit und wo es in erster Linie auf die Erhaltung des Pigmentes ankam, Sublimat-Eisessig. Auch diese Embryonen wurden in Formolwasser aufgehoben und zum Teil wie oben angegeben weiter behandelt. Für die Anfertigung von Photographien wurden die Embryonen in Zedernholz aufgehellt.

E. Schoebel (Neapel).

C. Mikroorganismen.

Meirowsky, E., Studien über die Fortpflanzung von Bakterien, Spirillen und Spirochäten. Mit 1 Textfigur u. 19 Tfln. 95 pp. Berlin (Jul. Springer) 1914. 12 M.

In technischer Hinsicht ist diese Schrift interessant, da die in ihr niedergelegten Befunde vorwiegend mit Vitalfärbungen gewonnen worden sind. Die im folgenden angegebenen Methoden des Verf. sind im Anschluß an die Färbemethode von Nakanishi (Enzykl. d. mikr. Technik Bd. **2**, p. 807, 1. Aufl.) und auf Grund eigener Erfahrungen mit Farbstoffen bei der Vitalfärbung von Spirochäten (vgl. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 123) ausgebaut.

1) Färbung mit wässeriger Methylen-Methylviolett-Lösung. Das benutzte Farbgemisch, das von Grübler bezogen werden kann, hat folgende Zusammensetzung:

Methylviolett	20·00
Methylenviolett	4·00
NaCl 0·5 %	100·00
Acid. carbol.	0·25

Auf einem gut gereinigten und sterilisierten Objektträger wird etwas Untersuchungsflüssigkeit mit einem Tropfen der Farbe vermischt. „Die Intensität der Färbung hängt wesentlich von der Größe des Tropfens der Farbe ab. Es ist deshalb ratsam, diese zu variieren, um verschieden abgestufte Färbungen zu erzielen.“ — 2) Färbung mit alkoholischer Methylen-Methylviolett-Lösung nach der Nakanishi-Methode. Auf einem gut gereinigten Objektträger wird mittels eines Hölzchens ein wenig von folgendem Farbgemisch ausgestrichen:

Methylviolett	0·25
Methylenviolett (Grübler)	0·10
Alkohol, 90 %	20·00

Nach Verdunsten des Alkohols bleibt eine dünne Farbschicht zurück. Man beschickt ein abgeflammtes und wieder abgekühltes Deckglas mit der Untersuchungsflüssigkeit, läßt es auf die Farbschicht fallen und umrahmt es mit einer Mischung von Wachs und Kolophonium zu gleichen Teilen. „Es ist darauf zu achten, daß der Flüssigkeitstropfen genügend groß ist, da man sonst Präparate erhält, in denen die Spirochäten auf dem Grunde des Objektträgers gefärbt liegen.“ Die Methode färbt Spirochäten aus Kulturen, die der Balanitis und der Hühnerspirillose sofort, Gewebespirochäten langsamer (1 bis 2 Stunden). — 3) Färbung mit Kresylmethylenblau und anderen

Farbstoffen nach derselben Methode. Im Anschluß an von Prowazek und Keysselitz verwandte Verf. auch andere Farbstoffe in gleicher Weise, namentlich ein Gemisch von:

Kresylmethylenblau	0·2
Spiritus. 70° „	20·0

Ähnliche Effekte wie die Vitalfärbungen ergibt eine 4) Färbemethode für fixierte Ausstrichpräparate, die eine Modikation einer von Weidenreich, Hoffmann und Halle angegebenen Methode darstellt. Ein gut gereinigter Objektträger wird 1 Minute lang den Dämpfen einer 1prozentigen Osmiumsäurelösung ausgesetzt. Ein Tropfen der Untersuchungsflüssigkeit wird auf ihm dünn ausgebreitet und 30 Sekunden, nicht länger, feucht über 1prozentiger Osmiumsäure fixiert. Das feuchte oder fast trockene Präparat wird auf etwa 20 Stunden in Pappenheims Panchromlösung (Grübler; 1 Tropfen auf 1 cc destillierten Wassers) oder in Giemsa-Lösung, gebracht, dann in destilliertem Wasser abgespült, an der Luft getrocknet und in Zedernöl eingeschlossen. „Kommt das Präparat noch feucht in die Farbe, so wird zwar ein Teil des Ausstriches fortgeschwemmt; dagegen sind die auf dem Objektträger haftenden Spirochäten bei dieser Methode am schönsten gefärbt. Die Panchromlösung ist für diesen Zweck der Giemsa-Lösung vorzuziehen.“ — 5) Zur Negativbeobachtung der Spirochäten bediente Verf. sich der Nitscheschen Kollargolmethode (vgl. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 265). — 6) Die Untersuchung im Dunkelfeld, die zur Kontrolle der angegebenen Methoden diente, wurde mit dem Kardioidkondensor von Zeiss vorgenommen.

Mittels dieser Methoden weist Verf. nach, daß Tuberkulose-, Lepra-, Paratyphus B- und Gärtnersche Enteritisbazillen, sowie Spirillen und Spirochäten Seitensprossung aufweisen und seiten- und endständige Knospen treiben, die oft Dolden bilden und nach ihrem Freiwerden wieder Stäbchen bzw. Spirillen austreiben. (Alle genannten Organismen rechnet Verf. demnach nicht zu den Bakterien, sondern setzt sie in Beziehung zu höheren Pilzen; die Spirochäten sind nicht mit Protozoën verwandt.) Der Nachweis dieser Zustände beruht also „hauptsächlich auf dem Prinzip, die Fixierung entweder ganz zu unterlassen oder so vorsichtig auszuführen, daß die offenbar leicht vernichtbaren Strukturen nicht der Zerstörung anheimfallen, was regelmäßig der Fall ist, wenn sie lange den Einwirkungen austrocknender oder eiweißfällender Mittel ausgesetzt sind“.

Im letzten Kapitel der Schrift verteidigt sich Verf. gegen Einwände, die gegen seine Methode erhoben worden sind oder erhoben werden könnten (Farbstoff- und Nährbodenanlagerungen, Plasmolyse, Plasmoptyse, Degenerations- und Involutionserscheinungen). Man muß anerkennen, daß Verf. sich durch Kombination der Lebendbeobachtung und der Kollargolmethode mit den färberischen Methoden gegen An-

griffe gut gesichert hat. Die Darstellung der Befunde auf den zum Teil farbigen Tafeln ist gut; am meisten scheint dem Referenten eine der photographischen Tafeln — Nr. XIII, auf Spirochaeta gallinarum bezüglich — die Ergebnisse zu bestätigen. Dennoch kann man sich nicht jedes Zweifels an ihnen entschlagen, vor allem, weil Verf. nicht die Ablösung der „Knospen“ wirklich beobachtet hat. Es kann auch fraglich erscheinen, ob die oben beschriebenen Methoden 1 bis 3 echte Vitalfärbungen ergeben; die mittels ihrer tingierten Spirochäten erwiesen sich als unbeweglich, und die Weiterimpfung ergab zwar wiederholt, aber nicht immer ein positives Resultat. Das spricht wohl für einen schädigenden Einfluß der Färbung. Es fehlt an der Feststellung, ob die „chromatischen Substanzen“, die sich zu kugelförmigen Körpern verdichten, welche zu „Knospen“ werden, Kerne oder Fetttropfen, Volutin oder sonstige Reservestoffe der untersuchten Organismen sind.

Hingewiesen sei noch auf die ausführliche Darstellung der verschiedenen Ansichten über Bau, Fortpflanzung und systematische Stellung der Spirochäten. *Hans Schneider (Bonn).*

D. Botanisches.

Wisselingh, C. van, Über den Nachweis des Gerbstoffs in der Pflanze und über seine physiologische Bedeutung (Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. **32**, 1915, Abt. 1, p. 155).

Diese Arbeit berührt sich vielfach mit den Mitteilungen des Verf., über die in den beiden vorigen Heften dieser Zeitschrift berichtet worden ist. Verf. hat über 60 Reagenzien auf ihre Brauchbarkeit zum Nachweis des Gerbstoffes bei Spirogyra geprüft. Am unschädlichsten und daher zu physiologischen Studien allein geeignet sind Koffeïn ($^1/_{10}$- bis 1prozentige Lösung) und Antipyrin (1 Prozent). Diese Reagenzien dringen schnell in die Zelle ein und fällen den Gerbstoff fast völlig in Tropfen, die sich in Wasser wieder lösen, wobei die Zellen ihr normales Aussehen gewinnen; eine längere Zeit fortgesetzte, täglich 10 bis 30 Minuten dauernde Behandlung von Spirogyra mit den Lösungen schadet den Zellen nicht. — Aus der Besprechung der übrigen Reagenzien sei folgendes erwähnt: Als Eisenreagens benutzt Verf. Ferriazetat, das, im Überschuß und in nicht zu schwacher (10prozentiger) Lösung angewandt, ein schwarzes Präzipitat mit Gerbstoffen liefert. Ammoniummolybdat benutzt Verf. in folgender Mischung: Gleiche Teile von 25prozentiger (nicht stärkerer) Ammoniumchloridlösung, 5prozentiger Ammoniummolybdatlösung und destilliertem Wasser; die Reaktion wird durch Erwärmen

beschleunigt. Das von MOLL eingeführte Kupferazetat ist als Gerbstoffreagens nicht zu empfehlen. Phenylhydrazin, von CZAPEK eingeführt, benutzt Verf. in konzentrierter Lösung. — Bei allen Reaktionen ist es angebracht, die Niederschläge durch Plasmolyse deutlicher zu machen.

Hans Schneider (Bonn).

Karsten, G., Über embryonales Wachstum und seine Tagesperiode (Zeitschr. f. Bot. Bd. **7**, 1915, H. 1, p. 1).

Das Ergebnis dieser physiologischen Untersuchung ist von Interesse für den, der sich mit Kernteilungsstudien befaßt. — Verf. zeigt an Pisum sativum und Zea Mays, daß Wurzelvegetationspunkte stets annähernd gleich viele in Teilung befindliche Kerne aufweisen, hingegen Sproßvegetationskegel ein nächtliches Maximum der Zahl sich teilender Kerne besitzen, sowohl bei Dunkelkultur als bei normaler Beleuchtung. Für Zea fällt das Maximum genau auf 4 Uhr nachts, für Pisum (Dunkelkultur) auf 10 bis 2 Uhr nachts. Die Einleitung stellt aus der Literatur Angaben über feste Teilungszeiten bei niederen Pflanzen zusammen, auf die hier verwiesen sei.

Hans Schneider (Bonn).

Mayr, F., Hydropoten an Wasser- und Sumpfpflanzen (Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. **32**, 1915, Abt. 1, H. 2, p. 278).

Unter Hydropoten (Wassertrinkern) versteht Verf. organartige Gebilde an submersen Pflanzen oder Pflanzenteilen, die sich physikalisch durch hohe Permeabilität für Wasser, chemisch durch eine metamorphosierte Kutikula und Durchtränkung der Zellwände mit einer eigenartigen Substanz charakterisieren. An ihrer Bildung beteiligen sich meist nur Epidermiszellen, manchmal auch noch 1 bis 3 subepidermale Schichten. Ihre Größe und Anordnung ist verschieden; bei Ranunculus fluitans und aquatilis, Ceratophyllum demersum und Myriophyllum spicatum besteht die ganze Epidermis der submersen Blätter aus Hydropotenzellen.

Die Kutikula der Hydropoten unterscheidet sich morphologisch nicht von den normalen Kutikula. Sie färbt sich aber mit Sudan III nicht hochrot, sondern nur orange; diese Färbung verschwindet zudem schnell in Eau de Javelle, die die Hydropotenkutikula in 1 bis 12 Stunden — bei Ranunculus fluitans schon in 10 Minuten — auflöst. Die Kutikula ist für Wasser benetzbar und gut durchlässig (Probe mit Fuchsinlösung); an älteren Pflanzenteilen ist sie oft zerstört.

Die Imprägnierungssubstanz der Hydropoten-Zellwände hat folgende Eigenschaften: Sie ist unlöslich in konzentrierter Schwefelsäure,

Kupferoxydammoniak, Ammonoxalat, kalter und kochender Kalilauge. Sie ist leicht löslich in Eau de Javelle, ziemlich löslich in 50prozentiger Chromsäure, langsam löslich in Königswasser und konzentrierter Salpetersäure. Kalte Kalilauge färbt sie gelb, Jod und Schwefelsäure bräunlichgelb. „Fuchsin, Gentianaviolett und Anilinblau werden in großer Menge gespeichert, in geringerem Maße Eosin. Sudan III in alkoholischer Lösung färbt leicht orange, nicht aber rot.“ Die imprägnierte Membran ist meist hellgelblich, in älteren Blättern vielfach gelbbraun. *Hans Schneider* (*Bonn*).

Neuenstein, H. v., Über den Bau des Zellkerns bei den Algen und seine Bedeutung für ihre Systematik (Arch. f. Zellforsch. Bd. **13**, 1914, H. 1, p. 1).

Diese Arbeit stellt an der Hand einer reichen Literatur das Wichtigste unserer Kenntnisse der Morphologie des Zellkerns in der Gruppe der Algen übersichtlich zusammen; die eigenen Untersuchungen des Verf. beziehen sich hauptsächlich auf Microspora amoena. In dem methodischen Abschnitt wird die Schwierigkeit, gute Kernpräparate zu erhalten, hervorgehoben. — Als Fixierungsmittel wandte Verf. namentlich 2- bis 3prozentige Chromsäure (24 Stunden) und das starke Flemmingsche Gemisch (eine halbe Stunde) an. Die Chromsäure ist vorzuziehen, wenn es die Chromatophoren zu entfärben gilt. Das Gemisch von Pfeiffer von Wellheim gab ebenfalls recht gute Resultate. Absoluter Alkohol fixiert die Kerne zwar gut, empfiehlt sich aber nicht, weil er starke Schrumpfung der Zellen bewirkt. Fixierung und Färbung nach May-Grünwald ist nicht anzuraten; das Verfahren bewirkt bei zarten Objekten Zerfall der Fäden und tingiert die Zellwand zu stark. Nur für das Studium der Pyrenoide bei den Desmidiaceen empfiehlt Verf. die Giemsa-Färbung nach Fixierung nach May-Grünwald. — Zum Auswaschen benutzt Verf. zunächst destilliertes, etwas alkalisch gemachtes Wasser, dann (eine halbe Stunde) fließendes Wasser. — Die besten Färbungen ergaben Hämatoxyline. Heidenhains Eisenhämatoxylin färbt die Algenkerne, aber auch die Pyrenoide intensiv; will man sich vor Verwechslung kleiner Kerne mit Pyrenoiden sichern (Cladophora), so wendet man Delafields Hämatoxylin an, das die Pyrenoide höchstens schmutziggelb tingiert. Für rasche Orientierung empfiehlt sich Hämalaun nach Mayer: Algen, deren Kern schlecht sichtbar gemacht werden kann (Stigeoclonium, Conferva, Hormidium usw.), bringt Verf. nach dem Färben in Chloralhydrat (5 : 1 Wasser). „Da verquoll dann der ganze Zellinhalt, auch der Kern etwas; aber der Kern behielt seine Farbe vollständig, während alle anderen Inhaltsbestandteile der Zelle nur noch diffus gefärbt waren.“ — Die Überführung der Algen in Xylol verlangt die größte Vorsicht. Verf. läßt das Xylol durch einen Tropftrichter sehr allmählich zu

dem die Objekte enthaltenden absoluten Alkohol tropfen; das benutzte Reagensglas ist durch einen durchbohrten Kork verschlossen, durch den die Luft und der nach oben gedrängte Alkohol abfließen können. *Hans Schneider* (*Bonn*).

Ramlow, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Ascoboleen (Mycol. Zentralbl. Bd. 5, 1914, H. 4, p. 178).

Da Fließpapier die Fruktifikation des untersuchten Pilzes, Ascophanus carneus, fördert, bedeckt Verf. den Boden der zur Aufnahme der Kulturen bestimmten Petri-Schalen mit Fließpapier, sterilisiert die Schalen bei 200 bis 300° und beschickt sie mit Mistagar. Die Mitte des Agars impft er durch Auflegen von jungen Fruchtkörpern oder von Filtrierpapierstücken mit solchen. Bei genügender Dicke läßt sich die Agarschicht leicht vom Filtrierpapier befreien und unmittelbar zur mikroskopischen Untersuchung verwenden oder, nach Fixierung in Chromessigsäure, Merckels oder Flemmings Gemisch (schwach), einbetten. Um die Agarschicht auch bei Vorhandensein größerer Fruchtkörper, denen Luft anhaftet, in dem Fixiergemisch zum Untersinken zu bringen, bestreicht Verf. sie nach einem Rate Claussens unmittelbar vor dem Übertragen mittels eines weichen Pinsels mit destilliertem Wasser. Zur Färbung dienten die Methoden von Flemming und Heidenhain. *Hans Schneider* (*Bonn*).

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Nowak, Jan, Einige Präpariermethoden der ammonitischen Lobenlinien (Mitt. d. Geolog. Ges. in Wien Bd. 6, 1913, H. 3, p. 234—237).

Die oft kaum oder gar nicht sichtbaren Lobenlinien der Ammoniten können nach den folgenden Methoden sichtbar gemacht werden.

Bei mergeligen Steinkernen greift man die Oberfläche durch Putzen mit einer Bürste oder Sand oder Schmirgel ganz leicht an. Die Lobenlinie tritt hervor, weil die Stellen, wo die Kammerwand an die Oberfläche gelangt, weniger widerstandsfähig als die anderen sind. Nach dem Trocknen wird die Oberfläche berußt, indem man den Hahn einer Gasleitung öffnet und die starke Gasflamme schief auf die Ammonitenflanke richtet. Der Ruß bedeckt die Lobenlinie schwächer als die übrigen Partien des Abgusses.

Dies Verfahren versagt bei Ammoniten, die als Skulptursteinkerne im kompakten Steinkern enthalten sind, wie z. B. in den karpathischen Klippen und dem Hallstätter Kalk. Bei diesen wird die Oberfläche mit Glaspapier so weit angeschliffen, bis man den Teil des Steinkerns

entfernt hat, welcher der Schale entspricht. Dann taucht man die Versteinerung 5 Minuten lang in eine sehr verdünnte Silbernitratlösung und trocknet sie im Tageslicht. Die jetzt ganz gleichmäßig schwarze Oberfläche wird ein wenig mit Glaspapier oder einer Bürste mit feinem Schmirgel abgerieben. Dabei tritt die Lobenlinie hervor.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Auerbach, F., Das Zeiss-Werk und die Carl Zeiss-Stiftung in Jena. 4., umgearbeitete u. vermehrte Aufl. Jena (G. Fischer) 1914. 200 pp. 149 Abb., 1 Bildnis von Ernst Abbe. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 80.) 3 M.

Allgemeine Biologie (Die Kultur der Gegenwart, herausgegeb. von P. Hinneberg. III. Teil, 4. Abt., Bd. 1). Redaktion: C. Chun u. W. Johannsen unter Mitwirkung von A. Günthart. Bearbeitet von E. Baur, P. Boysen-Jensen, P. Claussen, A. Fischel, E. Godlewski, M. Hartmann, W. Johannsen, E. Laqueur, B. Lidforss, W. Ostwald, O. Porsch, H. Przibram, E. Rádl, O. Rosenberg, W. Roux, W. Schleip, G. Senn, H. Spemann, O. zur Strassen. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1915. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 81.) Geh. 21 M., geb. 23 M.

2. Mikroskop und Nebenapparate.

Gebrauchsanweisung für den Schlittenobjektivwechsler. Ausführung 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 82).

Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate (Auszug aus dem Hauptkatalog). 5. Ausgabe 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 261).

Stativ III. Ergänzbares Mikroskopstativ mit der Mikrometerbewegung nach M. Berger. 5. Ausgabe 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 93).

Stativ V. Laboratoriums- und Kursstativ mit oder ohne Kippvorrichtung. 6. Ausgabe 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 259).

3. Projektion und Mikrophotographie.

Epidiaskop A. Ausgabe 1915. C. Zeiss-Jena (Mikro 337).

Vorläufiger Prospekt über das neue Epidiaskop und Episkop. C. Zeiss-Jena (Mikro 333).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Barber, M. A., The pipette method in the isolation of single microorganisms and in the inoculation of substances into living cells (The Philippine Journ. of Science vol. **9**, 1914, sec. B, no. 4; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 82).

Russell, D. G., The effect of gentian violet on Protozoa and on tissues growing in vitro, with especial reference to the nucleus (Journ. of. exper. med. vol. **20**, no. 6, p. 545—553 w. 1 pl.).

Wasicky, R., Das Fluoreszenzmikroskop in der Pharmakognosie (Pharmazeut. Post, 1913, p. 829).

White, O. E., A new cytological staining method (Science vol. **39**, 1914, p. 394).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Breßlau, E., u. **Voß, H. v.**, Das Nervensystem von Mesostoma Ehrenbergi [Focke] (Zool. Anz. Bd. **43**, 1915, p. 260—263 m. 2 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 92).

Burghause, F., Kreislauf und Herzschlag bei Pyrosoma giganteum nebst Bemerkungen zum Leuchtvermögen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **108**, 1914, p. 430—497 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 91).

Haanen, W., Anatomische und histologische Studien an Mesothuria intestinalis (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 185—255 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 92).

Hausding, B., Studien über Actinoloba (Metridium) dianthus (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **38**, 1913, p. 49—135 m. 34 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 90).

Krasińska, S., Beiträge zur Histologie der Medusen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 256—348 m. 5 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 93).

Mrázek, A., Regenerationsversuche an der tripharyngealen Planaria anophthalma (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **38**, 1914, p. 252—276 m. 9 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 91).

b. Wirbeltiere.

d'Antona, S., Über die Entstehung der Bindegewebsfasern bei den atherosklerotischen Aortaverdickungen. Beitrag zur normalen Entwicklung des Bindegewebes (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 485—530 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 101).

Berenberg-Goßler, H. V., Über Herkunft und Wesen der sogenannten primären Urgeschlechtszellen der Amnioten (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, No. 9, 10, p. 241—264 m. 9 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 112).

Ceni, C., Spermatogenesi aberrante consecutiva a commozione cerebrale (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **38**, 1913, p. 8—29 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 113).

Grosso, G., Über die Methylenblau-Pikrinsäure-Farbmethode zur Darstellung der Kernpersistenz bei reifen Erythrozyten der Säugetiere und über die Anwendung von Methylengrünpikrinat in der hämatologischen und histologischen Technik (Folia hämatol. Arch. Bd. **48**, p. 71—76).

Hadda, S., Die Kultur lebender Gewebe in vitro (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 1, p. 33—35).

Hartmann, A., Neue Untersuchungen über den lymphoiden Apparat des Kaninchendarmes (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, No. 3, 4, p. 65—90 m. 9 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 105).

Hauschild, M. W., Zellstruktur und Sekretion in den Orbitaldrüsen der Nager. Ein Beitrag zur Lehre von den geformten Protoplasmagebilden (Anat. Hefte, H. 152 [Bd. **50**, H. 3], 1914, p. 533—629 m. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 110).

Hertwig, G., u. **Hertwig, P.**, Kreuzungsversuche an Knochenfischen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **87**, 1914, Abt. 2, p. 49—88 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 114).

Hitchings, F. W., A method of counting the actual number of Purkinje cells present in a given area of cerebellum, and its application in ten clinical cases (Journ. of exper. med. vol. **20**, no. 6, p. 595 w. 1 fig.).

Hofman, P., Vitale Färbung embryonaler Zellen in Gewebskulturen (Folia hämatol. Arch. Bd. **18**, 1914, p. 136—139).

Hoven, H., Histogénèse du testicule des mammifères (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, H. 3, 4, p. 90—109 m. 7 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 113).

Krontowski, A., u. **Poleff, L.**, Über das Auftreten von lipoiden Substanzen in den Gewebskulturen und bei der Autolyse der entsprechenden Gewebe (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **58**, 1914, H. 2, p. 406—433 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 98).

Kutchin, H. L., Studies on the peripheral nervous system of Amphioxus (Proc. Amer. Acad. of Arts a. Scienc. vol. **49**, 1913, no. 10, p. 571—624 w. 8 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 107).

Leschke, E., Untersuchungen über die Funktion der Niere (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 27, p. 1498—1499; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 108).

Lindbom, O., Om vitalfärgning af röda blodkroppar (Nord. med. Ark. 1914 [Inre Med.] H. 1, 4, no. 25, 8 pp. m. 1 Tfl.).

Löwenfeld, W., u. **Jaffé, R. H.**, Beiträge zur Kenntnis der Langerhansschen Inseln in Pankreas (Virchows Arch. Bd. **216**, 1914, H. 1, p. 10—25 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 111).

Martynoff, W., Nervenendapparate in der Brustwarze der Frau und bei Säugetierweibchen (Folia neurobiologica Bd. 8, 1914, No. 3, p. 249—263 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 106).

Mita, G., Physiologische und pathologische Veränderungen der menschlichen Keimdrüse von der fötalen bis zur Pubertätszeit, mit besonderer Berücksichtigung der Entwicklung (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **58**, 1914, H. 3, p. 554—614 m. 6 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 111).

Pedaschenko, D., Die Entwicklung der Augenmuskelnerven (Anat. Anzeiger Bd. 47, 1914, No. 6, 7, p. 145—180 m. 9 Abb.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 105).

Ponomarewa, A., Über den Ursprung der Fettsubstanzen in der Nebennierenrinde (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Path. Bd. **59**, 1914, H. 2, p. 349—370 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 109).

Porcelli-Titone, F., Der Mitochondriaapparat der Geschwulstzellen (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **58**, 1914, H. 2, p. 237—249 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 104).

Ranson, S. W., The structure of the vagus nerve of man as demonstrated by a differential axon stain (Anat. Anzeiger Bd. **46**, 1914, No. 19, p. 522—525 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 106).

Rehs, J., Beiträge zur Kenntnis der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie insbesondere der Topographie des elastischen Gewebes des Palatum durum der Mammalia (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 1—127 m. 7 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 96).

Roerdansz, W., Die Vorbereitung des Blutes zur Zählung seiner Formelemente und die den einzelnen hierbei gebräuchlichen Methoden innewohnenden Unsicherheiten (Folia hämatol. Arch. Bd. **18**, 1914, H. 1, p. 1—42).

Unna, P. G., Zur Chemie der Zelle. VI. Epithelfasern (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, No. 15, p. 695—699; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 102).

Voigt, J., Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper [III. Mitt.] (Biochem. Zeitschr. Bd. **68**, H. 5, 6, p. 477—509; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 95).

c. Mikroorganismen.

Jaffé, H., Ein Vorschlag zur Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 4, p. 304).

Kufferath, H., Action de la gélatine à diverses concentrations sur les bactéries et les levures (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **42**, 1914, No. 19, 20, p. 557—573).

Liebermann, L. v., Neuer gefärbter Nährboden zur scharfen Unterscheidung säurebildender Bakterien von anderen, insbesonders des Colibazillus vom Typhusbazillus (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 51, p. 2093).

Meirowsky, E., Studien über die Fortpflanzung von Bakterien, Spirillen und Spirochäten. Mit 1 Textfigur u. 19 Tfln. 95 pp. Berlin (Jul. Springer) 1914. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 116.) 12 M.

Morgenroth, J., Trockennährböden nach Doerr zur Typhus- und Dysenteriediagnose (Münch. med. Wochenschr. 1914, Jahrg. **61**, No. 49, p. 2355).

Petroff, S. A., A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces (Journ. exper. med. vol. **21**, 1915, no. 1, p. 38—42).

Pfeilschmidt, Über den Wert der Mandelbaumschen Typhusnährböden [Rosolsäure-Laktose-Blutagar] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, No. 1, p. 88).

Schmidt, P., Über eine Modifikation der Gallenvorkultur zur Züchtung von Typhusbazillen aus Blut (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1914, No. 2, p. 33—34).

Schmitz, K. E. F., Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 4, p. 306).

Troili-Petersson, G., Einzelkulturen von langsam wachsenden Bakterienarten speziell der Propionsäurebakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **42**, 1914, No. 17, 18, p. 526—528).

d. Botanisches.

Herter, W., Der mikroskopische Nachweis der Kartoffel im Roggenbrot (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen Bd. **6**, 1914, p. 205).

Herter, W., u. **Rasch, W.**, Die quantitative Bestimmung des Kartoffelmehls im Brot (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen Bd. **6**, 1914, p. 210).

Karsten, G., Über embryonales Wachstum und seine Tagesperiode (Zeitschr. f. Bot. Bd. **7**, 1915, H. 1, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 119).

Mayr, F., Hydropoten an Wasser- und Sumpfpflanzen (Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. **32**, 1915, Abt. 1, H. 2, p. 278; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 119).

Neuenstein, H. v., Über den Bau des Zellkerns bei den Algen und seine Bedeutung für ihre Systematik (Arch. f. Zellforsch. Bd. **13**, 1914, H. 1, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 120).

Price, S. R., Some studies on the structure of the plant cell by the method of dark ground illumination (Arch. of Bot. vol. **28**, 1914, p. 601).

Ramlow, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Ascoboleen (Mycol. Zentralbl. Bd. **5**, 1914, H. 4, p. 178; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 121).

Roemer, F., Zur Pollenaufbewahrung (Zeitschr. f. Pflanzenzüchtung Bd. 2, 1914, p. 83—86).

Wasicky, R., Der mikroskopische Nachweis von Strychnin und Brucin im Samen von Strychnos nux vomica L. (Zeitschr. allg. österr. Apothekervereins Bd. 52, 1914, No. 7, p. 35, No. 8, p. 41, No. 9, p. 53, No. 10, p. 67).

Winter, Die mikroskopische Untersuchung der Kohle im auffallenden Licht (Glückauf Bd. **49**, 1913, No. 35, 36, p. 1406).

Wisselingh, C. van, Über den Nachweis des Gerbstoffs in der Pflanze und über seine physiologische Bedeutung (Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. **32**, 1915, Abt. 1, p. 155; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 118).

---

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Nowak, Jan, Einige Präpariermethoden der ammonitischen Lobenlinien (Mitt. d. Geolog. Ges. in Wien Bd. **6**, 1913, H. 3, p. 234—237; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 121).

Band 32. Heft 2.

Zur Methodik der mikroskopischen Pflanzenfaser-untersuchung[1].

Von

Dr. Gertrud Tobler-Wolff.

Schon lange ehe die große und immer wachsende Mannigfaltigkeit der technisch verwendbaren Fasern zu einer genauen Untersuchung ihrer Unterscheidungsmerkmale gezwungen hatte, war es natürlich nötig gewesen, die Güte und Identität des Materials mit den vorhandenen Hilfsmitteln beurteilen zu können. Die Ungenauigkeit der früheren Verfahren und zugleich den Wert einer wissenschaftlichen Methodik zeigen aufs deutlichste Cramers[2] Veröffentlichungen über einige gerichtliche Gutachten, aus denen sich ergibt, daß alle Urteile der damals vorhandenen Sachverständigen unsicher und zum Teil sogar falsch waren, und daß nur das Mikroskop entscheidenden Aufschluß gab. Er war nicht der erste, der sich stärkerer Vergrößerungen bediente; schon Leeuwenhoek[3] hatte 1677 die Flachsfaser im Mikroskop betrachtet, und 1853 gab Schacht[4] eine mit Abbildungen versehene Zusammenstellung der von ihm mikroskopisch — auch schon

[1]) Im folgenden soll weder ein vollständiges Referat über das Gebiet der Faseruntersuchung gegeben, noch sollen neue Methoden dargestellt werden; es ist nur ein Versuch, die Methodik zu skizzieren und ihre grundsätzlichen Besonderheiten hervorzuheben.

[2]) Cramer, C., Drei gerichtliche mikroskopische Expertisen. Zürich 1881.

[3]) Leeuwenhoek, A. van, Phil. Transact. vol. 12, 1677.

[4]) Schacht, H., Die Prüfung der im Handel vorkommenden Gewebe. Berlin 1853.

mikrochemisch — untersuchten Pflanzenfasern. Gegen 1870 beginnen dann die klassischen Untersuchungen WIESNERS[1 2] und seiner Schüler zu erscheinen. Ein gutes Literaturverzeichnis der bis 1905 erschienenen Veröffentlichungen findet sich z. B. in HÖHNELS Handbuch[3]; hier seien von den älteren Arbeiten noch die von VÉTILLARD[4] und von neueren Autoren HANAUSEK[5] genannt. — Es muß hier bemerkt werden, daß von der Papierfaser — von der WIESNERS Untersuchungen 1867 ausschließlich handeln — nicht die Rede sein soll; denn für dies ganz spezielle Gebiet hat sich auch eine eigene und zum Teil sogar vereinfachte Methodik ausgebildet. —

Gegenwärtige Methodik.

Messungen. Ein wichtiges Kennzeichen der Pflanzenfaser ist ihre Länge und Breite. Das Verhältnis beider Faktoren zueinander bedingt häufig den Wert des Materials. Baumwollhaare z. B. und Flachsfasern werden um so höher eingeschätzt, je feiner sie bei sonst gleicher Güte sind.

Die Länge läßt sich vielfach makroskopisch feststellen; der Durchmesser dagegen wohl ausnahmslos nur mit Hilfe des Mikroskopes. Die gefundenen Zahlen sind nun aber in der Regel keineswegs eindeutig. Schon die frisch aus der Pflanze präparierten Gewebeteile werden sehr verschiedene Werte liefern, die abhängig sind vom Alter der Pflanze, von der Sorte, bei Fasern auch von der Lage im Stengel; ferner, wie z. B. T. TAMMES[6] für den Flachs gezeigt hat, vom Standraum und von der Bodenbeschaffenheit. Man wird aber auch von dem rohen Material stets nur Durchschnittsreste auf Grund sehr zahlreicher Messungen festlegen dürfen. Gleichmäßigkeit der Länge (der „Stapel“ der Baumwolle) ist eine technisch hoch eingeschätzte Eigenschaft; sie

[1]) WIESNER, J., Einleitung in die technische Mikroskopie. Wien 1867.

[2]) WIESNER, J., Mikroskopische Untersuchungen. Stuttgart 1872.

[3]) HÖHNEL, F. v., Mikroskopie der technisch verwendbaren Faserstoffe. 2. Aufl. Wien u. Leipzig 1905.

[4]) VÉTILLARD, M., Études sur les fibres végétales textiles. Paris 1876.

[5]) HANAUSEK, T. FR., Lehrbuch der technischen Mikroskopie. Stuttgart 1900.

[6]) TAMMES, T., Der Flachsstengel. Eine statistisch-anatomische Monographie. Naturk. Verhandl. Holl. Maatschappij d. W. Derde Verz., Deel VI. Stuk 4. Haarlem 1907.

kann z. B. durch möglichst sorgfältiges Ernten gleichmäßig reifer Früchte bzw. Stengel erzielt werden. Man wird also auch bei der mikroskopischen Feststellung der Länge auch Sammelzeit und Sammelart bedenken müssen. Außer der Länge und dem Gesamtdurchmesser können wertvolle Unterscheidungsmerkmale sein die Wanddicke an und für sich, dann das Verhältnis zwischen Wanddicke und Lumen, das besonders bei sklerenchymatischen Elementen sehr verschieden sein kann je nach ihrer Lage im Stengel (z. B. beim neuseeländischen Flachs). Die Beurteilung lediglich nach mehr oder weniger verarbeitetem Material ist natürlich noch viel schwieriger, da hier nach Möglichkeit auch Grad und Art der Behandlung berücksichtigt werden müssen. —

Form. Wenn es vielleicht mit verhältnismäßig groben Hilfsmitteln möglich war, einige Größenverhältnisse der Haare und Fasern zu ermitteln, so bedurfte es zum Erkennen der Form feinerer Apparate. Leeuwenhoek[1] konnte in seinem unvollkommenen Mikroskop noch nicht viel vom Bau der Flachsfasern erkennen; erst Bauer gibt 1834 näheren Aufschluß. — Nicht immer gelingt es leicht, feine und grade Querschnitte von Fasern und Haaren herzustellen, die aus dem Zellverbande gelöst sind; hier sind gewöhnlich einige Hilfsmittel nötig. Eins der einfachsten besteht darin, ganze Päckchen des zu untersuchenden Objektes in einen Tropfen Gummiglyzerin zwischen Holundermark-, Kork- oder Holzstückchen (je nach der Härte des Materials) einzubetten. Von anderer Seite[2] wird Eindrücken in erweichtes Paraffin empfohlen, das nach dem Schneiden leicht durch Xylol entfernt werden kann. In beiden Fällen ist die Vorbereitung handlich und wenig zeitraubend, und die Herstellung von Schnittserien leicht möglich; die ersterwähnte Behandlung hat noch den Vorteil, daß das Material nicht durch Agentien und Temperaturen beeinflußt wird.

Die Betrachtung der Form im Mikroskope wird zunächst entscheiden, was für anatomische Elemente vorliegen: Haare, einzelne Fasern oder Zellkomplexe. Innerhalb jeder dieser drei Gruppen wird es einige Merkmale geben, die eindeutig auf dies oder jenes Objekt hindeuten: die spiralig gedrehte Faser ist ganz charakteristisch für Baumwolle; ein Haar, das nach unten stark verbreitert

[1]) Leeuwenhoek, A. van, a. a. O.

[2]) Hager-Mez, Das Mikroskop und seine Anwendung. 11. Auflage. Berlin 1912.

ist und an den gleichen Stellen auffallende, netzförmige Verdickungen aufweist, stammt höchstwahrscheinlich von Kickxia. Im ganzen muß man aber bei Beurteilung dieser Formunterschiede, besonders bei verarbeitetem Material, sehr vorsichtig sein, und Tabellen, wie es deren einige gibt[1], sind mit Vorbehalt zu benutzen. Gewiß wird man Haare und Bastfasern daran unterscheiden können, daß jene stets, auch im Gespinst oder Gewebe noch, als isolierte Elemente zu erkennen sind, während diese Zellgruppen darstellen. Nicht aber ist z. B. ein allgemein gültiges Merkmal das Fehlen oder Vorhandensein der Kutikula. Denn die Baumwolle z. B. verliert die Kutikula bei der Merzerisation; bei dieser Behandlung geht auch die Drehung ganz oder teilweise verloren, so daß man bei gradegestreckten Haaren aus merzerisierten Geweben wiederum nicht immer sicher sein kann, reine Baumwolle vor sich zu haben. Da bleibt dann noch die Zellulosereaktion übrig. Merzerisation und Appretur bringen ihrerseits auch wieder bestimmte Formveränderungen hervor[2], die man für jedes Objekt kennen, resp. erproben muß. Einige Eigenschaften gehen eben bei der kräftigen, mechanischen und chemischen Behandlung verloren, andere entstehen neu. Am bekanntesten ist, daß, wie T. Tammes[3] gezeigt hat, die vielfachen „Verschiebungen" und „Brüche" der Flachsfasern gewissermaßen Verletzungen sind und an den unbeschädigten Fasern nicht auftreten. Auch die Lage der Fasern im Stengel bzw. Blatt gibt Anlaß zu Täuschungen. So erscheinen z. B. bei den Flachsfasern die Zellen im Querschnitt typisch polygonal, fest aneinandergedrückt, wie das bei den meisten Sklerenchymfasern der Fall ist. Dies Bild erhält man aber nur bei Fasern, die aus der mittleren oder oberen Stengelregion stammen. Die Sklerenchymfasern aus dem äußeren Teil der Stengelbasis aber sind im Querschnitt genau so unregelmäßig abgerundet und zusammengedrückt, wie es sonst nur für Ramie oder allenfalls Sunn[4] angegeben wird. — Zu den Formveränderungen, die beim Vergleich zwischen frischem und verarbeitetem Material zu beachten sind, gehört auch das Ausfallen zarterer Zellgruppen. So geht z. B. bei der Kokosfaser fast regelmäßig durch

[1]) Hanausek, E., u. Zaloziecki, R., Über Merzerisierung und Deformation der Baumwolle (Dinglers Polytechn. Journ. Bd. **306**, 1897, p. 19).

[2]) Hanausek, E., u. Zaloziecki, R., Über appretierte, merzerisierte Baumwolle (Dinglers Polytechn. Journ. Bd. **307**, 1898, p. 180).

[3]) Tammes, T., a. a. O.

[4]) Vgl. die betreffenden Abbildungen bei G. u. F. Tobler, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung von Pflanzenfasern. Berlin 1912.

Eintrocknen das zarte Phloem zugrunde, und es entsteht der charakteristische Kanal, dem die Faser ihre Leichtigkeit und Schwimmfähigkeit verdankt. Schließlich muß man noch bedenken, daß grade charakteristische Bestandteile wie Spitzen oder Zellenden im Durchschnittsmaterial relativ selten sind, also sehr gesucht werden müssen, z. B. wenn es sich um lange Faserelemente handelt.

Mikrochemie. Eine große Rolle bei der mikroskopischen Untersuchung der Pflanzenfasern spielen die mikrochemischen Reaktionen. Die Hauptfrage, die auf diesem Wege entschieden werden soll, ist die: besteht die Faser, bzw. das Haar, aus reiner Zellulose oder liegt Verholzung vor?

Zweierlei Reagentien wendet man zur Beurteilung dieser Frage an: einmal solche, die reine Zellulose leicht quellen lassen und lösen, also vor allem Kupferoxydammoniak, zweitens solche, die die Zellulose und ihre Modifikationen in charakteristischer Weise färben, nämlich Jod-Schwefelsäure, Phlorogluzin-Salzsäure, schwefelsaures Anilin.

Bei Fasern, von denen man weiß, daß sie im normalen (d. h. hier zu technischen Zwecken gut verwertbaren) Zustand ganz oder größtenteils aus reiner Zellulose bestehen, erlaubt die mikrochemische Untersuchung einen Schluß auf die Güte des Materials. Die Flachsfaser z. B. ist in der Regel unverholzt. Verholzte Fasern finden sich am meisten einerseits bei älteren Pflanzen überhaupt, anderseits im basalen Teil des Stengels und in der Nähe der Kapsel. Bei sorgfältiger und rechtzeitiger Ernte sollte man aber nur Fasern bekommen, die aus reiner Zellulose bestehen. Genauer gesagt: deren sekundäre Verdickungsschichten aus Zellulose bestehen; die Mittellamelle besteht aus Pectose. Diese Verschiedenartigkeit stört bei der Untersuchung nicht, die Fasern quellen z. B. in Schwefelsäure so schnell und stark auf, daß man die Mittellamelle nicht mehr sieht; anderseits verschwindet die Mittellamelle bei der technischen Verarbeitung.

Solche Fasern also, die aus reiner Zellulose bestehen, wie Baumwolle und guter Flachs, zeigen sehr charakteristische und eindeutige Reaktionen. In Jod-Schwefelsäure quellen sie unter intensiver Blaufärbung, in Kupferoxdyammoniak quellen sie gleichfalls sehr stark und lösen sich schließlich auf. Dabei bieten Flachs und (nicht merzerisierte) Baumwolle dem anatomischen Bau entsprechend sehr verschiedene Bilder. Beim Baumwollhaar reißt die Kutikula auf und bleibt nur hier und da als einschnürender Ring hängen. Die Flachsfaser hat natürlich keine Kutikula; sie quillt gleichförmiger zu einer

blaugallertigen Masse, und nur der gelbliche Protoplasmaschlauch bleibt übrig.

Schwieriger ist die Beurteilung der sogenannten „Verholzung" der Haare und Fasern. Da schon der Begriff Verholzung keineswegs klar und deutlich ist, so sind es die bezüglichen Reaktionen natürlich noch weniger. Man beschränkt sich im allgemeinen darauf, solche Membranen „verholzt" zu nennen, die sich in Jod und Schwefelsäure nicht bläuen, in Kupferoxydammoniak nicht lösen, dagegen sich in Phlorogluzin-Salzsäure rot, in Anilinsulfat gelb färben. Man verbindet mit dieser Reaktion in der Regel den Begriff einer mehr oder weniger großen Härte und Sprödigkeit, Eigenschaften, die die Verspinnbarkeit stark beeinträchtigen. In der Tat kann man zuweilen auf physikalischem Wege feststellen, daß Fasern, die die Holzreaktion zeigen, eine Festigkeit besitzen, die auf wirkliche Verholzung schließen läßt. Anderseits kommt es vor, daß Fasern sich ähnlich färben wie typisches Holz (z. B. mit Jod-Jodkalium), und daß sie sich doch in Jod-Schwefelsäure bläuen und in Kupferoxydammoniak lösen. Im allgemeinen wird man solche Membranen als verholzt bezeichnen, die sich ebenso färben, wie ein zur Kontrolle mitgefärbtes Holzspänchen. Man muß nur nicht vergessen, daß die Wirkung der genannten „Verholzungsreagentien" ziemlich subtil ist. So lassen sich z. B. an einem Haar (Versuche an Asklepias) verschiedene Stadien der Zellulosemodifikation nachweisen. Nicht immer kann man ohne weiteres beliebig eines der bekannten Reagentien verwenden. Manche Fasern färben sich in dem einen, aber gar nicht oder schlecht in dem andern Reagens[1].

Polarisation. Die physikalischen Eigenschaften der Haare und Fasern werden vorwiegend ohne Hilfe des Mikroskopes geprüft. Eine Ausnahme bildet ihr Verhalten im polarisierten Licht. Die Möglichkeit, pflanzliche Fasern daran zu unterscheiden, entdeckte zuerst Kind[2]; Schacht[3], Wiesner[4], Valentin[5], v. Höhnel[6], Remec[7]

[1]) Tobler, G., Über Spinnbarkeit von Pflanzenfasern (Sitzungsber. d. med.-naturwiss. Ges. Münster i. W., 1911).

[2]) Kind, Poggendorfs Annalen 1847.

[3]) Schacht, a. a. O.

[4]) Wiesner, J., Die pflanzlichen Rohstoffe, 1. Aufl., 1873.

[5]) Valentin, Untersuchung der Pflanzen- und Tiergewebe im polarisierten Licht. 1861.

[6]) Höhnel, F. v., a. a. O.

[7]) Remec, Über die spezifische Doppelbrechung der Pflanzenfaser (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien, 1901).

haben diese Methode weiter ausgebaut. Über die chemische Beschaffenheit gibt das Polarisationsmikroskop keinen Aufschluß, wohl aber über die äußere Struktur zuweilen besser und leichter als das gewöhnliche Mikroskop. —

Abbildungen. Die Bilder, die mit Hilfe des Mikroskopes entworfen werden, sind natürlich sehr wesentlich für die Untersuchung der Fasern, da man häufig zum Vergleich auf sie allein angewiesen sein wird. In neuerer Zeit bedient man sich vielfach der Mikrophotographie, die aber nicht immer der Zeichnung vorzuziehen ist. Gute photographische Abbildungen, wie z. B. die von Herzog[1], haben an sich natürlich den Vorzug einwandfreier Naturtreue, sind aber vielfach nur für sachlich und mikrotechnisch Geschulte von Wert, und werden doch zuweilen gerade auch für Zwecke der praktischen Unterweisung in Verkennung pädagogischer Methode solchen dargeboten, die weder mikroskopische Präparate herzustellen gewohnt sind, noch auch das Gesehene ohne nähere Anweisung zu bewerten verstehen. Die Zeichnung dagegen wird Einzelheiten meist klarer und einfacher darstellen; man kann keinesfalls auf sie verzichten. Für den Gelegenheitsbeobachter wird sie sogar stets der Photographie vorzuziehen sein, weil diese ja nicht charakteristische Einzelheiten betonen kann und durch das gleichmäßige Bild leicht verwirrt.

Die Methodik der mikroskopischen Pflanzenfaseruntersuchung ist ein Feld, das abgeschlossen gar nicht denkbar ist. Der Überblick über die geschichtliche Entwicklung könnte den Anschein erwecken, als ob es sich nicht sowohl um ein durch einzelne erhebliche Entdeckungen sprungweis gefördertes Gebiet handle, sondern als ob der Fortgang sich aus außergewöhnlich kleinen, und deshalb im einzelnen oft kaum merkbaren Schritten zusammensetze. In der Tat ist ja zwischen beispielsweise den ersten Wiesnerschen diagnostischen Angaben und dem heutigen Bestand grundsätzlich und noch mehr inhaltlich kaum ein Unterschied. Aber die Erweiterung der Kenntnisse ist doch logisch und methodisch sehr durchsichtig.

Außerordentlich oft ist durch das Erscheinen von neuen Pflanzenfasern im Handel das Bedürfnis ihrer diagnostischen Unterscheidung von dem bekannten Material und damit dessen neue Untersuchung angeregt worden. Neu und wichtig erscheinende Eigenschaften gewisser neu auftretenden Fasern forderten in bestimmter und vielleicht

[1]) Herzog, A., Mikroskopischer Atlas der technisch wichtigen Faserstoffe. I. Pflanzliche Rohstoffe. München 1912.

bisher vernachlässigter Richtung zum Studium und Vergleich der alten auf. Das lehren am besten die Wandlungen, die die mikroskopischen Tabellen erfahren haben. Man erkennt aus ihnen, wie wenig erschöpfend wissenschaftlich, wie sehr viel mehr dem augenblicklichen praktischen Unterscheidungsbedürfnis angepaßt die mikroskopischen Faseruntersuchungen waren.

Ebenso hat auch die Technik der Textilindustrie zu bestimmten Fortschritten der Untersuchung Anlaß gegeben. Einmal indem sie neue Faserkombinationen schuf und dadurch zur häufigen Unterscheidung bestimmter Gruppen von Objekten zwang (Jute — Hanf, Baumwolle — Kapok usw.); anderseits konnte auch in nicht vorherzusehender Weise die technische Behandlung (Merzerisation, Pressung) an den Fasern gewisse Merkmale hervorrufen und dadurch hier und da charakteristische Unterschiede aufheben, gelegentlich auch wieder neue Unterscheidungsmöglichkeiten bieten.

Bilden sich so aus der Praxis heraus immer neue Aufgaben, so eröffnet die technische Vervollkommnung der Instrumente auch neue Wege zur Lösung. Es ist erstaunlich, daß selbst die einfache Anwendung stärkerer Vergrößerung auch noch in jüngster Zeit einen brauchbaren Beitrag zur Faserdiagnostik liefern konnte, wie ihn Sonntag[1] in seiner Arbeit über Membranstreifungen bietet.

[1]) Sonntag, P., Die Torsionserscheinungen der Pflanzenfasern beim Anfeuchten und die mikroskopische Unterscheidung von Hanf und Flachs (Jahresber. d. Vereinig. f. angew. Bot., Berlin 1912).

[Eingegangen am 8. Oktober 1915.]

[Aus dem k. k. neurologischen Institute der Universität Wien.
Hofrat Prof. OBERSTEINER.]

Beitrag zur Färbungstechnik der Neuroglia.

Von

Dr. Eugen Pollak,
Demonstrator des Institutes.

Seit drei Jahren mit histologischen Studien über die Neuroglia beschäftigt, habe ich im Laufe dieser Zeit reiche Erfahrungen in dieser Frage histologischer Färbungstechnik gemacht, deren Resultate ich hier zusammenfassen will. Es ist eine alte Tatsache, daß die Neurogliafärbung eine der schwierigsten ist und die Fachliteratur weist eine ganz enorm große Zahl von Färbungsmethoden auf. Schon dieser Umstand läßt mit einiger Berechtigung auf die Insuffizienz der einzelnen Methoden schließen, was ich auch empirisch gelernt habe. Unter den zahlreichen Methoden erwies sich die MALLORY-Phosphorwolframsäure-Methode als die brauchbarste; ich habe mit bestem Gelingen die Details der Technik ausgearbeitet.

Die Technik, die in mehreren wichtigen Punkten nicht unwesentlich von den Originalarbeiten abweicht, ist folgende:

1. Fixierung der Stücke in 1prozentiger Pikrinsäure durch 5 bis 6 Tage bei 37°, dann in 5prozentigem Ammonbichromat 5 bis 6 Tage bei 37°.
2. Übertragen der Stücke in steigendem Alkohol.
3. Einbettung in Zelloïdin.
4. Schneiden[1].
5. Vorbehandlung der Schnitte:
   a) in $^1/_3$prozentigem Kaliumpermanganat durch 5 Minuten,
   b) Auswaschen in destilliertem Wasser,
   c) Übertragen in 1prozentige Oxalsäure für 5 Minuten,
   d) Auswaschen in destilliertem Wasser.

[1]) Die Schnitte dürfen nicht dicker als 10 μ sein.

6. Färbung in: MALLORYS Hämatoxylinlösung (Hämatoxylin 0·1: Phosphorwolframsäure, 10prozentig 20·0; Aqua destillata 80·0; Wasserstoffsuperoxyd 0·2)[1] durch etwa 20 Stunden bei 37°.
7. Differenzierung in 30prozentiger alkohol. Eisenchloridlösung[2] durch 2 bis $2\frac{1}{2}$ Stunden eventuell unter Zuhilfenahme des Mikroskopes.
8. Übertragen in 95prozentigen Alkohol für 15 Minuten.
9. Einschließen.

Die Vorteile dieser Färbung sind: Ausgezeichnete Darstellung der Neuroglia-Elemente. Das Material muß nicht wie bei anderen Färbungen ganz frisch sein. Die vorhergehende Härtung in Formol schadet nicht. Die Methode zeigt sowohl bei normalem wie pathologisch verändertem menschlichem Gewebe gleich schöne Bilder: an tierischem Gewebe habe ich sie noch nicht versucht. —

[1]) Bei der Farbstoffbereitung achte man auf folgendes: Auflösen des Hämatoxylin durch Kochen und Zusatz der in der Hitze gelösten Phosphorwolframsäure. Man verwende das MERCKsche Fabrikat. Die Farblösung soll 2 Tage dem Lichte ausgesetzt werden und ist nach 8 Tagen gebrauchsfähig. Die Farblösung kann nach der Färbung wieder verwendet werden.

[2]) Die Lösung muß knapp vor dem Gebrauche bereitet werden, da sehr schnell eine Zersetzung eintritt.

[Eingegangen am 4. Juni 1915.]

[Aus dem Physiologischen Institute der Universität Graz.]

Herstellung mikroskopischer Dauerpräparate von Hämoglobinkristallen.

Von

Prof. O. Zoth.

Vor dreißig Jahren haben wir in Gemeinschaft mit Kollegen Smreker[1] eine kurz vorher von Stein[2] mitgeteilte Methode genauer erprobt, weiter verfolgt und zu erklären versucht, durch die Hämoglobinkristalle aus verschiedenen Blutarten durch Einwirkung hauptsächlich von Harzlösungen als mikroskopische Dauerpräparate erhalten werden konnten. Diese Darstellungsweise scheint aber, wohl zum Teile wegen des Publikationsortes, wenig Beachtung und Verbreitung gefunden zu haben. Im Laufe der durch Jahre oft wiederholten gelegentlichen Ausübung in unserem Institute wurde die Methode weiter ausgebildet und vervollkommnet, so daß heute aus den leichter kristallisierbaren Blutarten von Meerschweinchen, Eichhörnchen, Hund, Katze und Pferd, die zugleich auch die wesentlichsten Haupttypen der verschiedenen Kristallformen der Hämoglobine darbieten, die mikroskopischen Kristallpräparate leicht von jedermann in so großer Reinheit, Schönheit und Dauerhaftigkeit hergestellt werden können, daß es sich vielleicht lohnt, die in einigen Einzelheiten etwas heikle Methode zur Nachahmung bekanntzugeben.

1. Das Blut. Dieses wird aus einer Arterie oder Vene, durch Schlachtung oder aus dem Herzen entnommen, durch Schlagen an der Luft in gewöhnlicher Weise defibriniert und dann durch Leinwand geseiht. Es bleibt bis zur alsbaldigen Verwendung offen an

---

[1]) Smreker, E., u. Zoth, O., Über die Darstellung von Hämoglobinkristallen mittels Kanadabalsams und einige verwandte Gewinnungsweisen (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-naturwiss. Kl., III. Abt. Bd. **93**, 1886, p. 133).

[2]) Stein, St. v., Ein Beitrag zur Lehre von den Blutkristallen (Virchows Arch. Bd. **97**, 1884, p. 483).

der Luft stehen und wird vor jedesmaliger Entnahme einer kleinen Menge zur Anfertigung der Präparate durch Rühren oder Schwenken gut aufgemischt[1].

2. Die Harzlösung. Von käuflichem Dammarharz wird eine Anzahl der reinsten Körner ausgesucht, diese werden grob gepulvert und nach Ausklauben der gröberen Verunreinigungen in reinem, wasserhellem (nicht gelblichem!) Xylol bei Zimmertemperatur zu mittlerer Sirupkonsistenz gelöst. Der noch vorhandene Schmutz setzt sich in einigen Tagen ab. Die klare Lösung ist im Dunklen aufzubewahren und soll nicht älter als 3 bis 4 Monate sein.

3. Die Blutkammer. Zwei runde, gut gereinigte Deckgläschen von 10 mm Durchmesser werden unter Zwischenlage eines Streifchens von dünnerem oder dickerem Schreibpapier an zwei gegenüberliegenden Rändern mit möglichst wenig Paraffin aneinander gekittet. Dann wird der Papierstreifen herausgezogen und die so hergestellte, zur Aufnahme des Blutes bestimmte Kammer mit einem kleinen Tropfen der Harzlösung auf die Mitte eines reinen Objektträgers gekittet. Nach 48 Stunden kann dieser weiter verwendet werden. So zugerichtete Objektträger können vorrätig gehalten werden.

4. Herstellung des Präparates. Von dem frisch umgerührten defibrinierten Blute wird mit einem ausgezogenen Glasröhrchen ein Tropfen an den offenen Rand der Blutkammer gesetzt, der sofort eindringt und sie gerade knapp ausfüllen soll. Ein etwaiger Rest auf dem Objektträger wird mit Filtrierpapier sorgfältig abgetrocknet. Nun kommt auf das obere Deckglas der Blutkammer ein recht großer Tropfen der Harzlösung, der darauf mit einem größeren runden Deckglas von 16 mm Durchmesser so bedeckt wird, daß er die Blutkammer von allen Seiten gleichmäßig umfließt. Das Deckglas wird dabei zweckmäßig mit einer Pinzette horizontal gehalten und vor seitlicher Verschiebung bewahrt, bis der ganze Ring von der Harzlösung erfüllt ist. Nach 1 bis 2 Tagen beginnt die Kristallisation vom Rande aus und nach 8 Tagen ist sie meist schon so weit vorgeschritten, daß die prächtigen glatten und scharfkantigen Kristalle auf völlig klarem, blaß gefärbtem Untergrunde schon mit freiem Auge zu sehen sind. Bei Beachtung aller beschriebenen Maßregeln treten keine

[1]) Sehr schöne und vielleicht noch leichter haltbare Präparate erhält man auch, wenn man den Blutfarbstoff durch Darüberleiten von Kohlenoxyd- oder Leuchtgas in Kohlenoxyd-Hämoglobin umwandelt. Man kann mit solchem Blute weiter an der Luft arbeiten.

Fäulnis- oder Reduktions- und Lösungserscheinungen auf. Für die Beobachtung unter dem Mikroskope sind schwache Vergrößerungen und schiefe Beleuchtung zu empfehlen.

Die Präparate sind — namentlich in den ersten Monaten nach der Herstellung — wagrecht liegend aufzubewahren und vor Verschiebungen und Erschütterungen des Deckglases zu schützen, da die eingeschlossenen Kristalle des Hämoglobins sehr weich, biegsam und zerbrechlich sind. Sie eignen sich auch — unter Schutz gegen zu starke Erhitzung (direkte Kühlung!) — zur Projektion mit dem Projektionsmikroskope.

[Eingegangen am 27. September 1915.]

[Aus dem Physiologischen Institute der Universität Graz.]

Herstellung mikroskopischer Präparate von „kristallisiertem Chlorophyll“ (Willstätter).

Von

Prof. O. Zoth.

Im Anschlusse an die vorausstehende Mitteilung will ich kurz die Methode beschreiben, die sich mir nach mehrfachen Versuchen als die beste und einfachste zur Herstellung für die mikroskopische Untersuchung brauchbarer Dauerpräparate von „kristallisiertem Chlorophyll“ (Willstätter) erwiesen hat. Herr Professor Willstätter hatte vor mehreren Jahren die Güte gehabt, mir eine kleine Menge von seinem „kristallisierten Chlorophyll“ (Äthyl-Chlorophyllid) zu überlassen, das ich dazu benützte. Das Originalpräparat, größtenteils aus schönen Drusen makroskopischer Kristalle und Bruchstücken von solchen bestehend, erwies sich zur unmittelbaren mikroskopischen Untersuchung wenig geeignet. Es wurde davon zunächst eine (bei Zimmertemperatur) konzentrierte Lösung in Äthyläther ohne Erwärmen hergestellt und diese dann mit dem gleichen Volumen Äther auf die Hälfte verdünnt. Von dieser halbgesättigten Lösung werden mit einem fein ausgezogenen Glasröhrchen nacheinander drei kleine Tropfen auf die Mitte eines gut gereinigten Objektträgers gebracht, so daß ein Tropfen nach dem anderen verdunstet und sich die Hauptmasse des Rückstandes auf einen Ring von 8 bis 10 mm Durchmesser ausbreitet. Dann wird das Präparat leicht angehaucht und sogleich, Präparatseite nach unten, auf die Mündung einer Ätherflasche gelegt, die es so lose verschließt: hier beginnt nun die Kristallisation. Das Präparat bleibt so 3 Stunden liegen, worauf es abgenommen wird und weitere 3 Stunden offen an der Luft liegt. Die Temperatur soll dabei 18 bis 20° C betragen. Schließlich wird das Objekt, nach Durchsicht, am besten mit Zwischenlage eines Papier-Klebringes, einfach mit einem Deckglas bedeckt, also in Luft eingeschlossen.

In so hergestellten Präparaten sieht man bei mittelstarken Vergrößerungen namentlich an den Rändern des gebildeten Farbstoffringes die schönen, im allgemeinen kleinen, dreieckigen und sechseckigen Formen des kristallisierten Chlorophylls, an günstigen Stellen auch größere Kristalle, die Tetraeder, Kombinationen und Durchwachsungen solcher darstellen. Auf letztere sind wohl auch die sechseckigen Formen mit ihren oft deutlich abwechselnd ungleich langen Seiten zurückzuführen. Die kleineren, schön grün durchscheinenden Kristalle eignen sich auch für die mikrospektroskopische und polariskopische Untersuchung.

Aus einer mehrere Jahre alten, schon etwas olivgrün verfärbten Lösung erhielt ich neben sehr schönen, großen Tetraedern (mit etwas gewölbten Flächen) auch Büschel von grünen spießigen Kristallnadeln und mannigfache andere Formen, wie sie für die Kristallisation des Chlorophyllans beschrieben worden sind.

[Eingegangen am 27. September 1915.]

Über quantitative Angaben in histologischen Vorschriften, zugleich nachträgliche Bemerkung zu meinem Aufsatz:

„Beiträge zur klinisch-morphologischen Hämatotechnik" (Diese Zeitschr. Bd. 31, p. 310).

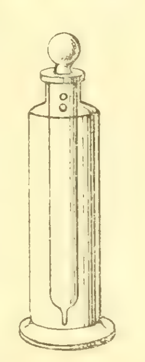
Von

G. C. van Walsem
in Meerenberg (Holland).

Hierzu eine Textabbildung.

Bezüglich der von mir beschriebenen Modifikation der panoptischen Färbung von Bluttrockenpräparaten habe ich die, übrigens für andere auch wohl nicht ganz seltene Erfahrung gemacht, daß, als ich nach einiger Zeit anderweitiger Beschäftigung die Sache wieder aufnahm, ich nicht in demselben Maße befriedigende Resultate erhielt, wie dies früher regelmäßig der Fall war. Es lag auf der Hand in dem vorliegenden Fall, wo es sich um den Gebrauch recht komplizierter, teilweise sehr labiler Farbstoffkombinationen handelte, in irgendeiner Alteration derselben den Grund dazu zu suchen. Tatsächlich traf dies auch zu, nämlich die von mir gebrauchte Giemsa-Lösung (Giemsas Lösung für die Romanowsky-Färbung; Grübler) war nicht mehr völlig brauchbar. Dies erklärte die Sache aber nicht vollständig, und so war ich in die Lage versetzt worden alle einschlägigen Verhältnisse wieder auf das genaueste zu prüfen. Auf diese Weise gelang es mir vollkommen die Sache wieder in das richtige Gleis zu bringen, worüber ich am Schluß dieses Aufsatzes berichten will. Zuvor aber möchte ich auf einen hiermit zusammenhängenden Punkt eingehen, der ein mehr allgemeines Interesse für sich zu beanspruchen geeignet erscheinen dürfte und dessen Vernachlässigung mich zeitweise irreführte. Ich meine die genaue Formulierung quantitativer Angaben in histologischen Vorschriften.

Auf zwei Punkte möchte ich hierbei besonders die Aufmerksamkeit lenken, und zwar auf das im allgemeinen Unzulässige der Angaben in „Tropfen" und zweitens auf die Notwendigkeit genauerer Präzisierung bei der Angabe der prozentuarischen Zusammensetzung von Lösungen. Was den ersteren Punkt betrifft, so bin ich eben hier das Opfer eines nicht gut zu heißenden Schlendrians geworden, was, möge es zu meiner Exkulpation nicht hinreichen, dennoch vielleicht den Grund zur Zusprechung mildernder Umstände abgeben dürfte. Die Menge, welche einem „Tropfen" entspricht, kann bei einer und derselben Flüssigkeit so weit auseinander laufen, daß für subtilere histologischen Arbeiten eine solche Angabe im allgemeinen als ungenügend, ja als geradezu irreführend zu bezeichnen ist. Anderseits ist das Arbeiten mit Tropfen so einfach, daß man es für die tägliche Praxis kaum entbehren kann. Man soll daher hier sich hüten das Kind mit dem Bade auszuschütten. Will man aber den Nachteil einer sich rächenden Ungenauigkeit beiseite schieben, so muß man in erster Linie jedenfalls davon Abstand nehmen, daß man direkt aus einer Flasche, sei dieselbe auch mit einer Ausflußöffnung versehen, tropft. Der Unterschied in der Größe der Tropfen, auch bei Gebrauch derselben Flasche und derselben Flüssigkeit, kann hierbei zu weit auseinander liegen. Zu sehr auffallenden Differenzen kommt man, wenn die Flüssigkeit die Ausflußstelle nicht gehörig benetzt, was bei vielen dünneren wässerigen Lösungen, auch bei Beachtung gehöriger Reinlichkeitsmaßnahmen, der Fall ist, in ganz auffallender Weise aber für Osmiumsäurelösungen zutrifft, in welchem Fall eben die quantitative Genauigkeit in der Regel sehr ins Gewicht fällt. In der praktischen Medizin hat man dem gerügten Umstand dadurch Rechnung getragen, daß in der internationalen Konferenz für die Unifikation stark wirkender Arzneimittel ein bestimmtes Modell für den hier zu verwendenden Tropfer festgestellt worden ist, welches in den offiziellen Arzneibüchern angeführt wird und eine Ausflußöffnung von 0·6 mm besitzt, wobei diese Öffnung sich in der Mitte einer kreisförmigen Fläche von 3 mm Durchmesser befindet (Normaltropfenzähler, Fig. 1). Die Frage, ob auch nicht die Histologen bei der Angabe von Tropfenzahlen sich auf diesen Tropfenzähler einigen sollten, scheint mir der Überlegung wert. Jedenfalls aber darf meines Erachtens keine Angabe geschehen ohne gleichzeitige Mitteilung der Zahl der betreffenden Tropfen, welche in dem gegebenen Fall von 1 ccm gefaßt wird. Weiter muß



für den persönlichen Gebrauch stets derselbe, bzw. der für den vorliegenden Fall bestimmte Tropfer verwendet werden, während bei Gebrauch eines anderen Tropfers stets eine entsprechende Umrechnung und eventuell die daraus hervorgehende Korrektion vorgenommen werden muß. Der Tropfer muß nach jedem Gebrauch gehörig gereinigt werden. Schließlich hat man darauf zu achten, daß man stets in derselben Haltung — wozu sich selbstverständlich die vertikale empfiehlt — tropft. Da es sich bei Anwendung von Tropfen jedenfalls um verhältnismäßig kleine Flüssigkeitsmengen handelt, muß man, und namentlich gilt dies für ungefärbte Flüssigkeiten, weil hier die sinnfällige Kontrolle fehlt, darauf gefaßt sein, daß die Tropfen direkt in die zur Aufnahme bestimmte Flüssigkeit fallen und etwa nicht teilweise an der Wand des Gefäßes haften bleiben. Der Beobachtung Yvons, daß das Gewicht des Tropfens im umgekehrten Verhältnis zu der Druckhöhe innerhalb des Tropfenzählers steht, ist leicht Rechnung zu tragen.

Zweitens ist hier auf die Unsicherheit bei in der üblichen Weise gemachten Angaben der prozentuarischen Zusammensetzung von Lösungen hinzuweisen. Wenn von einer x-prozentigen Lösung einer beliebigen Substanz, etwa in Wasser, die Rede ist, bleibt man im allgemeinen im ungewissen, ob die Lösung hergestellt ist aus x g Substanz und 100 ccm Wasser, oder ob zu x g Substanz soviel Wasser zugesetzt ist, daß 100 ccm Lösung entstanden ist. Bei der Anwendung verdünnter Lösungen kann es sich hier um ein imponderabile handeln, bei konzentrierteren Lösungen kann dies aber mehr oder weniger Bedeutung erlangen. Man sollte sich auch in diesem Punkt einigen und eine ständige Praxis sich einbürgern lassen, und zwar in diesem Sinn, daß, wie es in der Chemie bei der Maßanalyse üblich ist, die prozentuarische Zusammensetzung sich immer auf 100 ccm der Lösung bezieht. Nur bei dieser Voraussetzung ist es ja doch möglich bei der Vornahme von Verdünnungen die dabei resultierende Zusammensetzung sofort genau zu kennen, während man in dem entgegengesetzten Fall nicht nur die Prozentziffer behalten muß, sondern auch die zu dieser Zahl gehörige Volumszunahme, welche 100 ccm des Lösungsmittels bei Herstellung der fraglichen Lösung zeigt. Bei der Herstellung von Verdünnungen kommt man dann notwendigerweise in kompliziertere rechnerische Aufgaben, wenn man die genaue Zusammensetzung der neu entstandenen Flüssigkeit ermitteln will. Diese Volumszunahme ist selbstredend bei steigender Konzentration größer und macht sich dann auch bei der Herstellung von Lösungen von Salzen ohne Kristallwasser sehr bemerklich.

Auch mit den sonstigen Angaben, die in Verwendung kommenden Flüssigkeiten betreffend, etwa bei mehr zusammengesetzten Mischungen über die Reihenfolge, in welcher die Komponenten zusammengebracht sind; ob destilliertes Wasser gebraucht worden ist — bei allen feineren Arbeiten sollte dies eigentlich selbstredend sein — oder nicht, usw., sei man nicht sparsam, weil ja leichter der Vorwurf pedantischer Kleinigkeitskrämerei zu ertragen ist als der Gedanke an die Möglichkeit der wohl nicht so seltenen Enttäuschung, die Andere bei dem Versuch einer angepriesenen Methode zu folgen, eben von der Zweideutigkeit in der Abfassung der Vorschriften irregeführt, würden erfahren können. Auch die verwendeten Reagenzien sind so viel wie möglich genau zu präzisieren. Wo es angeht, wird man zu diesem Zweck wohl am einfachsten an die Umschreibungen der doch wohl im allgemeinen ziemlich stringenten Forderungen genügenden offiziellen Arzneibücher sich halten. Wie könnte man sonst wissen, was „Natr. sulf.", was „Salpetersäure" eigentlich bedeutet?

Unter Beachtung obiger Prinzipien möchte ich jetzt das Verfahren zur panoptischen Färbung von Bluttrockenpräparaten näher schildern im Anschluß an meine oben zitierte Arbeit. Bei der vorgenommenen Modifizierung ist, wie sich ersehen läßt, die früher angegebene Linie vollkommen festgehalten worden. Weil aber aus der jetzt genauer angegebenen Bereitungsweise *einer* der Komponenten der Fixierflüssigkeit eine Änderung derselben hervorging, mußten alle Unterteile dementsprechend etwas abgeändert werden, was aus dem innigen Konnex zwischen Fixieren (Beizen) und Färben ohne weiteres einleuchtend ist. Das mittels der beschriebenen Zentrifugiermethode hergestellte Präparat trocknet an der Luft 5 Minuten. Die Fixierung dauert 3 Minuten. Für einen Objektträger wird verwendet: Sublimatkochsalzlösung $1^1/_2$ ccm; Osmiumsäure, 2prozentig, 2 Tropfen; Eisessig 3 Tropfen. Die Blutschicht wird mit dieser Flüssigkeit übergossen, und zwar in der Weise, daß man je ein Drittel je 1 Minute einwirken läßt. Der Objektträger wird während der ganzen Prozedur einer horizontalen Schüttelbewegung unterworfen. Die Sublimatkochsalzlösung wird folgendermaßen hergestellt: 35 g Sublimat und 6 g Kochsalz werden verrieben und dann in heißem, destilliertem Wasser gelöst; dieser Lösung wird soviel destilliertes Wasser zugesetzt, daß das Gesamtvolum 100 ccm beträgt. Nach Abkühlung kristallisiert ein Teil aus. Am folgenden Tag ist dies beendet und kann die jeweilig nötige Menge von den schweren Kristallen leicht abgegossen werden. Die Osmiumsäurelösung wird zugesetzt mittels einer Tropfpipette, wo-

bei 40 Tropfen 1 ccm ergeben, während 94 Tropfen Eisessig bei dem von mir verwendeten Tropfer 1 ccm bilden. Der Zusatz des letzteren hängt mit der jetzt bestimmter angegebenen Bereitungsweise der Sublimatkochsalzlösung zusammen. Sublimat, Kochsalz und Eisessig sind die Präparate des „Niederländischen Arzneibuches“ (vierte Ausgabe). Die Zusammenstellung der Fixierflüssigkeit wird am besten jedesmal aufs neue vorgenommen. Nach Beendung der Fixierung wird mittels der Spritzflasche in schonender Weise mit destilliertem Wasser die Abspülung während $^1/_2$ Minute ausgeführt. Bei der Färbung unterscheide ich wiederum eine Vorfärbung und eine Nachfärbung. Zur Vorfärbung bediene ich mich folgender Flüssigkeit: $^1/_2$prozentige Lösung von Azur II (Azur II „Giemsa“-Grübler) in destilliertem Wasser, Eosin-Methylenblau May-Grünwald (Grübler) je 1 ccm. $^1/_3$ ccm dieser Mischung lasse ich unter fortwährender, horizontaler Bewegung 1 Minute einwirken, mit einer zweiten Portion, ebenfalls $^1/_3$ ccm, wird dies während 1 Minute wiederholt. Die übrigbleibenden $1^1/_3$ ccm werden zur Füllung der von mir angegebenen Farbzelle verwendet und wirken in dieser 40 Minuten auf das Präparat ein. Bei Verdünnung der „May-Grünwald“-Lösung mit der genannten Azurlösung heben sich die Kerne deutlicher und schärfer hervor und in diesem Punkt scheint auch die Nachfärbung günstig beeinflußt zu werden. Nach der Vorfärbung wird das Präparat mit destilliertem Wasser mittels der Spritzflasche einmal abgespült. Zur Nachfärbung verwende ich folgende Giemsa-Mischung: destilliertes Wasser $1^1/_2$ ccm, Giemsas Lösung für die Romanowsky-Färbung (Grübler) 12 Tropfen (entsprechend 7 Tropfen des Normaltropfenzählers). 1 ccm faßt nämlich 76 Tropfen der genannten Lösung. Die Mischung zerfällt in 3 Portionen, je zu $^1/_3$. Mit dem ersten Drittel wird die Blutschicht übergossen, dann wird der Objektträger leicht erhitzt, bis zu dem Grade, wo eben Dämpfe abgehn. Die Einwirkung dauert 1 Minute. Während dieser wird das Präparat fortwährend in horizontaler Richtung hin- und herbewegt. Dasselbe wiederholt sich mit dem zweiten und mit dem dritten Drittel, jedesmal aber während 2 Minuten. Auch hierbei ist die erhöhte Temperatur und die fortwährende Bewegung in Anwendung zu bringen. Die erwähnte Giemsa-Lösung ist bekanntlich kein konstantes und dauerhaftes Präparat. Man muß hierauf gefaßt sein und dieselbe der aufgeklebten Vorschrift entsprechend, wenn nötig, regenerieren. Nachdem der überschüssige Farbstoff mittels destilliertem Wassers fortgeschafft worden ist, kann die Beobachtung stattfinden. Bei dieser Beobachtung

halte ich das destillierte Wasser für das geeigneteste Medium, und nämlich dort, wo das Interesse der Granularanalyse sich zuwendet, ist es dem Einschluß in Balsam oder der direkten Befeuchtung mit Immersionsöl entschieden vorzuziehen. Ich belasse also soviel destilliertes Wasser auf dem Präparat, daß das Deckglas nicht fortschwimmt. Auf die obere Fläche des Deckglases wird in der üblichen Weise die nötige Menge Immersionsöl aufgebracht. Zur Aufbewahrung wird das Präparat getrocknet, am einfachsten und schnellsten mittels der Zentrifuge unter Anwendung des von mir angegebenen Behälters (l. c., Fig. 5), in Papier eingewickelt und an einem dunklen und trocknen Ort aufbewahrt.

Nachdem ich mittels der oben beschriebenen Methode Resultate erreicht hatte, welche den früheren vollkommen gleichwertig waren, so war mir doch anderseits die Kompliziertheit des Verfahrens wieder recht nah ans Herz gelegt worden. Der Versuch einer genaueren Analyse der ausschlaggebenden Momente schien daher geboten. Namentlich waren es zwei Faktoren, welche meine Aufmerksamkeit ganz besonders erregt hatten, und zwar erstens die Bedeutung der erhöhten Temperatur, wie diese bei der Nachfärbung sich gezeigt hatte, und zweitens der Einfluß der Einwirkung des (Methyl-) Alkohols nach der Fixation. Auf die Kompliziertheit und Wichtigkeit der postfixativen Alkoholwirkung im allgemeinen wies ich in meinem oben zitierten Aufsatz schon hin. Was die Bedeutung der erhöhten Temperatur betrifft, so zeigte diese sich bei der Vorfärbung von sehr geringer Wichtigkeit, bei der Fixation eröffnete sie dagegen neue Perspektiven. Diese führten aber nur unter der Bedingung zu einer fruchtbaren, praktischen Verwertung, daß eine verhältnismäßig ausgiebige postfixative Alkoholwirkung mit herangezogen wurde. Dadurch gelang es mir mit einer vollkommenen Konstanz eine panoptische Färbung zu erzielen, welche durch ihre Intensität und Schärfe sowie durch die Einfachheit der Ausführung das von mir bis jetzt Erreichte hinter sich ließ. Ich möchte deshalb schließlich diese Methode als die alleinige empfehlen. Die Ausführung gestaltet sich folgendermaßen: Zur Fixierung wird verwendet 3 ccm der oben genannten Sublimatkochsalzlösung, nachdem man 6 Tropfen 2prozentige Osmiumsäurelösung (40 Tropfen = 1 ccm) und 6 Tropfen Eisessig (94 Tropfen = 1 ccm) zugesetzt hat. Das eben lufttrocken gewordene Präparat wird mit $^1/_2$ ccm dieser Fixierflüssigkeit übergossen. Die Einwirkung dauert 1 Minute. Diese Prozedur wird mit $^1/_2$ ccm wiederholt. Das Präparat wird dabei fortwährend hin- und herbewegt.

Nachdem diese zweite Portion abgegossen ist, wird wieder $^2/_3$ ccm Flüssigkeit auf das Präparat gebracht. Jetzt wird das Präparat vorsichtig und gleichmäßig erhitzt, bis deutlich Dämpfe abgehn, ebenfalls unter fortwährender Bewegung. Ich mache dies stets so, daß ich das Präparat ganz in der Nähe meiner Mikroskopierlampe halte, wobei die Wärme von oben hineindringt. Die Temperatur an dieser Stelle ist $\pm$ 60° C. Die Einwirkung dauert $1^1/_3$ Minute. Diese Prozedur wird dreimal ausgeführt, so daß im ganzen während 4 Minuten bei erhöhter Temperatur fixiert wird und die angefertigte Menge der Fixierflüssigkeit ganz verbraucht ist. Abspülen mit destilliertem Wasser während 1 Minute. Jetzt wird das Präparat in einem genügend großen Quantum Methylalkohol die Nacht über aufbewahrt. Zur Färbung wird verwendet eine Mischung von 1 ccm einer $^1/_4$prozentigen Lösung von Azur II „Giemsa" (Grübler) und 1 ccm der May-Grünwald-Lösung. Auf das aus Methylalkohol genommene, auf einer genau horizontalen Fläche liegende Präparat wird $^2/_3$ ccm der Farbflüssigkeit gebracht. Man läßt jetzt das Präparat unbedeckt liegen, wobei durch Verdampfung, namentlich des aus der Farbflüssigkeit stammenden Methylalkohols, eine allmähliche Eindickung stattfindet. Nach einer halben Stunde setzt man zu der vorhandenen Menge wiederum $^2/_3$ ccm zu, und 1 Stunde später ($1^1/_2$ Stunde nach der ersten Übergießung) wiederum $^2/_3$ ccm. Jetzt läßt man ruhig eindampfen. Nach 5 Stunden — eine mittlere Laboratoriumstemperatur wird dabei vorausgesetzt — hat die Flüssigkeit eine sirupöse Konsistenz. Jetzt wird sie mit destilliertem Wasser mittels der Spritzflasche entfernt und das Präparat wird wie oben beschrieben in Wasser beobachtet. Der Effekt ist ausgezeichnet, die Intensität und die Schärfe sind überraschend, sowohl die der Plättchen, als der verschiedenen Granulaarten. Was letztere betrifft, so möchte ich namentlich auf die sogen. azurophile Granula in dem Protoplasmasaum der Lymphozyten und auf die Granulierung der sogen. Übergangsformen hinweisen.

Schneller und noch sicherer kommt man ans Ziel, wenn man die erhöhte Temperatur auch bei der Färbung einwirken läßt, wodurch man von der Temperatur der Umgebung unabhängiger wird. Damit einem Abfließen der Flüssigkeit von dem Objektträger vorgebeugt werde, umrande ich den Blutausstrich mit einem Stück Paraffin bei der gewöhnlichen Temperatur, so daß ungefähr zwei Drittel für die bedeckende Flüssigkeit in Betracht kommt. Der Gang der ganzen Prozedur wird dann folgender: Fixieren bei der Lampe, zwei-

mal, jedesmal $2^1/_2$ Minute in $^2/_3$ ccm der genannten Sublimatmischung, abspülen in destilliertem Wasser, 6 bis 9 Stunden in Methylalkohol, übergießen mit $1^1/_2$ ccm der genannten Farbstoffmischung, bei der Mikroskopierlampe etwa 12 Minuten eindampfen, dann, damit keine für das Präparat gefährliche Eintrocknung eintrete, 3 Tropfen 50prozentigen Methylalkohol (48 Tropfen = 1 ccm) zusetzen, wieder 2 Minuten eindampfen, wiederum 3 Tropfen 50prozentigen Methylalkohol, wieder 2 Minuten eindampfen, abspülen mit Wasser, dann mit 10 ccm eines 20prozentigen Methylalkohols während 1 Minute differenzieren, beobachten in Wasser. Es wird möglicherweise notwendig sein, bei einer anderen Lampe die optimalen Größen der genannten Zeitabschnitte durch Ausprobieren genauer festzustellen, da sie nur für meine Lampe (Auer-Licht aus Fettgas) streng gültig sind.

Ich füge hierzu noch die Bemerkung, daß ich jedem, der sich dafür interessiert und mir seine Adresse meldet, meine Präparate gern zusende. Soweit ich unterrichtet bin, steht der Beförderung mikroskopischer Präparate mit der Post nach Deutschland (in der Form von „Muster ohne Wert") auch während der Kriegszeit keine Bestimmung entgegen.

[Eingegangen am 17. September 1915.]

Die Herstellung und Färbung von Serienpräparaten der Gehirne kleiner Tiere.

Von

Dr. F. J. Stuurman

Irrenanstalt „Meerenberg“ (Holland).

Für eine gerade vollendete Arbeit (welche bald in den Anat. Anzeiger veröffentlicht werden wird) über den Hypoglossuskern bei der weißen Maus, habe ich ein großes Material bearbeitet sowohl erwachsener Tiere, wie auch neugeborener und Fötus. Deren Gehirne wurden in lückenlose Schnittserien zerlegt, welche gefärbt wurden mit verschiedenen Zellfärbungen (Nissls Methylenblau, Toluidinblau, Unna-Pappenheims Methylgrünpyronin, Eisenhämatoxylin van Gieson), mit den Silberimprägnierungen nach Cajal und nach Bielschowsky und mit einer Markscheidenfärbung. Weil jedes Material bei der Bearbeitung seine eigentümlichen Beschwerden gibt, so daß jedesmal bei einer neuen Untersuchung wieder die besten Methoden herausgefunden werden sollen, so halte ich es für nützlich, daß man bei jeder Arbeit mitteilt, wie das betreffende Material bearbeitet wurde und welche besonderen Schwierigkeiten sich dargeboten haben.

Dies veranlaßt mich meine Erfahrungen bei der obengenannten Arbeit gemacht in Hinsicht der Schnittserientechnik und der Färbungsmethoden an dieser Stelle kurz mitzuteilen.

A. Die Nissl-Methode.

Fixieren: Die Gehirne der erwachsenen Tiere wurden am meisten in Alkohol, 96prozentig, fixiert. Die Gehirne der Neugeborenen und Fötus aber sind sehr weich und schrumpfen dadurch stark im Alkohol. Ich habe deshalb verschiedene Fixierungsmittel durchprobiert und möchte die Carnoysche Flüssigkeit (Alkohol 60, Chloroform 30, Eisessig 10) besonders empfehlen. Die Gehirne schrumpfen nicht im geringsten, so daß die Gehirne der Neugeborenen und

Fötus mit Schädel und Haut geschnitten werden können, was einen großen Vorteil darstellt, weil bei Neugeborenen das Auspräparieren des Gehirns fast und bei Fötus ganz und gar untunlich ist.

Auch wenn man das Präparat schnell weiter verarbeiten will, ist die CARNOYsche Flüssigkeit vorteilhaft, weil es nach dreistündiger Fixierung und Nachbehandlung in Alkohol absolutus während eines Tages fertig ist zur Einbettung.

Einbetten. Um lückenlose Schnittserien kleinen Materials zu erhalten, ist Einbettung in Paraffin meines Erachtens durchaus notwendig: das Zelloïdin kann man nie so gleichmäßig schneiden: auch ist die letzte Methode viel zeitraubender. Der Nachteil der Paraffinmethode, das Schrumpfen der Schnitte, ist bei sorgfältiger Behandlung äußerst gering und für Übersichtspräparate (im Gegensatz zu histopathologischen Präparaten) von keiner Bedeutung.

Mir gefiel zum Erhalten von langen Bändern ziemlich weiches Paraffin am besten. (Hartes und weiches Paraffin, Schmelzpunkt 60° und 45°, im Winter gleiche Teile, im Sommer 2 + 1.)

Aufkleben. Die Schnittbänder wurden aufgeklebt auf Gläser von 8 : 8 cm (ein sehr behendiges Format). Hierzu wurden sie auf laues Wasser gebracht, worauf sie sich glatt ausbreiten, und weiter auf die mit Eiweißglyzerin bestrichenen Gläser aufgefischt, geordnet und mit einem Tüchlein sehr vorsichtig etwas angedrückt, wodurch zugleich das überflüssige Wasser weggesaugt wurde. Wenn nach kurzer Zeit die Gläser ganz trocken waren, wurde das Paraffin durch Xylol entfernt. Gerinnung des Eiweißes durch Erhitzung ergab sich vollständig überflüssig und ohne Nutzen.

Auf diese Weise war es möglich auf einem Glas 8 bis 10 Reihen von je 12 bis 20 Schnitten zu ordnen, also das ganze Hypoglossusgebiet einer erwachsenen Maus. Nach dem Aufkleben einer Reihe soll das Glas jedesmal von neuem mit Eiweißglyzerin bestrichen werden, weil das Eiweiß sich im Wasser löst und vom Glase abspült.

Färben. Nach Alkoholfixierung ziehe ich noch immer die alte Vorschrift NISSLs vor (Methylenblau 3·75: venezianische Seife 1·75: Aqua dest. 1000).

Nach CARNOY-Fixierung aber gefiel mir Toluidinblau besser (gesättigte Lösung, Färbung und Differenzierung wie bei der NISSL-Methode).

Aufheben der Präparate. Es ist bekannt, daß diese Färbungen bald verbleichen. In meiner Dissertation[1] habe ich schon

[1]) Über den Ursprung des N. vagus beim Kaninchen. Amsterdam 1915.

darauf hingewiesen, daß die Schnitte in der Mitte unter dem Deckglase am schnellsten und am stärksten entfärbt wurden, indem sie am Rande ihre Farbe gut behielten. Ich meinte die Ursache im Xylol des Kanadabalsams zu finden. Mit Erfolg habe ich also das Deckglas fortgelassen, um das Xylol besser und rascher verdunsten zu lassen. Wenn der Kanadabalsam recht hart geworden ist, sind die Präparate ausgezeichnet zu gebrauchen; aber selbstverständlich nicht für Ölimmersion, weil das Zedernöl den Kanadabalsam löst. Um den Gebrauch der Ölimmersion nun möglich zu machen, hat Herr Kollege P. NIEUWENHUYSE, Prosektor in unserer Anstalt, mich freundlichst auf den Gedanken gebracht, den Kanadabalsam mit einer Gelatineschicht zu überziehen. Nach verschiedenen Versuchen gefällt mir diese Methode ganz gut. Das Verfahren ist nun folgendes: Nach Aufhellung in Kajeputöl oder in Bergamottöl werden die Präparate mit dünnem Kanadabalsam übergossen; so viel wie möglich läßt man den Balsam wieder abtropfen ins Gefäß, damit die Schicht des Balsams aufs dünnste werde. An den Rändern wird nun der Balsam ringsum bis an den Schnittreihen abgewischt. Bisweilen ist es nötig, mit einer Nadel einige Härchen usw. zu entfernen. Man läßt nun die Präparate in horizontaler Lage trocknen, zunächst 24 Stunden bei Zimmertemperatur, staubfrei in einem Schrank oder einer Lade, dann ± 6 Stunden im Brutofen bei 58°. Der Kanadabalsam ist nach dem Erkalten dann ganz und gar hart. Wenn man sofort im Brutofen trocknet, so wird nach der Erkaltung die Oberfläche nicht spiegelglatt, sondern runzlig.

Zum Gelatinieren, welches auch viel später, selbst noch nach Monaten geschehen kann, wird das Präparat mit einer durch Erwärmung verflüssigten 10prozentigen Gelatinegallerte übergossen. Wieder läßt man so viel wie möglich abtropfen, sorgt aber dafür, daß die ganze Kanadabalsamschicht gut bedeckt bleibt und läßt trocknen. Die Gelatine wird dann zu einem dünnen, harten, durchsichtigen Häutchen. Auch im Sommer ist die Gelatine in 1 bis 2 Tagen trocken, im Winter noch viel rascher.

Fixierung der Gelatine in 10prozentiger Formollösung ist deshalb überflüssig; gab mir auch keinen einzigen Vorteil.

Nach Gebrauch der Ölimmersion kann das Öl mit Xylol abgewischt werden.

Zubereitung der Gelatinegallerte: Man läßt z. B. 20 g Gelatine in 200 g Wasser quellen, erwärmt hiernach leise, so daß die Gelatine schmilzt, und filtriert die Flüssigkeit warm in eine weit-

halsige Flasche. Nach Erkaltung und Erstarrung werden zur Verhütung der Fäulnis einige Thymolkristalle in die Flasche auf die Gallerte gelegt.

Auf diese Weise kann die Gallerte monatelang aufbewahrt bleiben.

Vorher habe ich auch versucht, Thymol oder Karbol durch die Gelatine zu mischen; ich bin aber davon wieder zurückgekommen, weil das Thymol oder das Karbol als feine Kristalle im Gelatinehäutchen zu sehen war.

Hinzufügung von Glyzerin zur Gelatine hat zur Folge, daß die Gelatine nie ganz trocknen und hart wird, und ist deshalb unbedingt zu widerraten.

Außer dem Vorteil, daß die auf diese Weise behandelten NISSL-Präparate nicht verblassen, hat diese Methode noch den Vorzug, daß man dann keine Deckgläser nötig hat. Bei derartigen Serien verwendet man am meisten große Deckgläser, welche jedoch immer so wenig dünn sind, daß sogar die stärkere Trockenlinse nicht benutzt werden kann. Wollte man also die stärkere Vergrößerung anwenden, so sollte man zahlreiche kleine, dünne Deckgläser nehmen, welche Methode umständlich und kostspielig ist. Ich habe deshalb meine Methode auch bei allen anders gefärbten Präparaten angewendet, und selbst bei den Zelloïdinfilmen der Markscheidenpräparate, wenn die Zelloïdinschicht nicht zu dick war. Selbstverständlich soll hierbei eine etwas dickere Schicht Kanadabalsam auf das Präparat gebracht werden, wofür man eine konzentriertere Lösung des Balsams verwende.

B. Färbung nach UNNA-PAPPENHEIM.

Diese hübsche Färbung möchte ich auch als Zellfärbung anatomischer Übersichtspräparate aufs wärmste empfehlen. Die Ganglienzellen werden leuchtend rot, die Gliakerne bläulichgrün gefärbt. Im käuflichen Methylgrün-Pyroningemisch (GRÜBLER) wird 10 Minuten unter leiser Erwärmung gefärbt, danach abspülen in destilliertem Wasser, schnell entwässern, aufhellen in Kajeputöl, einschließen in Kanadabalsam.

C. Färbung nach WEIGERT-VAN GIESON.

Auch diese Färbung habe ich sehr oft auf die gewöhnliche Weise angewendet. Kernfärbung in WEIGERTS Eisenhämatoxylin 1 bis 2 Minuten (anfänglich färbte ich viel zu lange, wodurch Schrumpfungen

entstanden), abspülen in destilliertem Wasser, um Niederschlägen vorzubeugen, dunkeln in Leitungswasser, wenigstens 10 Minuten, färben in van Giesonscher Lösung $^1/_2$ Minute, abspülen, rasch entwässern, aufhellen in Kajeputöl, einschließen in Kanadabalsam. Wie auch die Unna-Pappenheim-Präparate, so entfärben sich die van Gieson-Präparate oft unter dem Deckglase; namentlich die Fuchsinfärbung verschwindet gänzlich. Bei diesen Präparaten ist also die oben beschriebene Einschließungsmethode ohne Deckglas durchaus notwendig.

D. Neurofibrillenfärbung.

Sowohl die Methode nach Cajal, wie diejenige nach Bielschowsky habe ich am Stücke vorgenommen. Beide sind noch nicht vollkommen: das Silber dringt zu schwer durch, so daß das Stück am Rande zu stark, im Innersten zu wenig tingiert wird.

Letztgenannte Methode gab mir noch die besten Resultate, namentlich mit Pyridinvorbehandlung; das Präparat schrumpft auch weniger als bei der Cajalschen Methode; jedoch ist es mir nicht gelungen, selbst nicht die Gehirne von Fötus im ganzen zu versilbern; sie mußten in Scheiben zerlegt werden, wodurch selbstverständlich das Herstellen lückenloser Schnittserien sehr beeinträchtigt wurde.

Die angewendete Methode war also diese: Fixieren in 12prozentiger Formollösung 2 Wochen, in Pyridin 2 Tage, auswaschen in fließendem Leitungswasser 12 Stunden, in destilliertem Wasser 3 Stunden, übertragen in 2prozentige Höllensteinlösung 5 Tage, in ammoniakalische Silberlösung 4 Stunden, abspülen in Aqua destillata, reduzieren in 20prozentiger Formollösung (mit Leitungswasser hergestellt) 1 Woche, entwässern, einbetten in Paraffin, schneiden und Schnitte aufkleben, wie bei der Nissl-Methode oben beschrieben ist, dann deparaffinieren in Xylol, durchziehen durch Alkohol 96 Prozent, Alkohol 70 Prozent, destilliertes Wasser, vergolden in 100 Aqua dest. + 30 gtt 1prozentiger Goldchloridlösung 15 Minuten, fixieren in 5prozentiger Fixiernatronlösung 1 Minute, abspülen in Aqua dest., entwässern, aufhellen in Karbolxylol, einschließen wie oben beschrieben in Kanadabalsam.

E. Markscheidenfärbung.

Der oben genannten großen Vorteile der Paraffineinbettung wegen habe ich die Markscheidenfärbung auch an Paraffinschnitten vor-

genommen. Über die Markscheidenfärbung im allgemeinen besteht schon eine ausgedehnte Literatur, auch die Anwendung an Paraffinmaterial ist schon oft ausgeführt. Ich habe also die verschiedenen Methoden durchgeprüft und von der einen dieses und von der anderen jenes entnommen. Bei Präparaten der Gehirne dieser kleinen Tiere ist die Hauptsache, daß die Differenzierung sehr vorsichtig vorgenommen wird, damit alle, auch die feinsten Fasern tingiert bleiben; die fraktionierte Differenzierung, von Schnitzler (Neurolog. Zentralbl. 1913, No. 7) angeraten, gab mir in dieser Hinsicht die besten Erfolge. Weiter habe ich eine einfache Methode ausgearbeitet, um eine große Anzahl der Paraffinschnitte in einem Zelloïdinfilm zu vereinigen. Auf diese Weise werden nicht nur mehrere Schnitte zugleich gefärbt und differenziert, sondern auch die Schnitte vorm Zerbrechen bewahrt: die entparaffinierten, losen Schnitte werden nämlich, zumal in der Hämatoxylinlösung, sehr brüchig und brechen deshalb fast immer.

Die von mir benutzte Methode ist nun folgende:

Fixieren. Nach kurzer Vorfixierung in 10prozentiger Formollösung (2 bis 4 Tage), sehr langes Fixieren in Müllerscher Flüssigkeit, z. B. 2 bis 3 Monate.

Einbetten. Nach raschem Entwässern (Alkohol, 70 Prozent, 2 Tage; Alkohol, 96 Prozent, 2 Tage; absoluter Alkohol 1 Tag), durchziehen durch Karbolxylol $^1/_2$ Stunde, Xylol (zweimal wechseln) 3 Stunden, Paraffin im Brutofen (ebenso zweimal wechseln) 6 Stunden, einbetten auf die gewöhnliche Weise. Andere Intermedien, wie Zedernöl, Ligroïn, Chloroform statt Xylol, geben meiner Erfahrung gemäß keinen einzigen Vorteil.

Der Paraffinblock kann nun zu beliebiger Zeit mit dem Mikrotom zu Schnittbändern geschnitten werden.

Aufkleben der Schnittbänder: Man läßt diese sich glatt ausbreiten, nicht auf lauem Wasser, sondern auf einer 4prozentigen Gelatinegallerte, leise bis zur Verflüssigung in einem Porzellanschälchen erwärmt. Die Schnitte werden daraus aufgefischt und geordnet auf einem Objektglas (8 : 8 cm), befeuchtet mit derselben Gelatinelösung. Die Schnitte kleben auf dem Glase fest, wenn die Gelatine durch die Abkühlung erstarrt. Andrücken der Schnitte wie bei der Eiweißglyzerinmethode ist zu widerraten.

Herstellen der Zelloïdinfilme: Nach beliebiger Zeit werden die Gläser zur Deparaffinierung der Schnitte in Xylol gebracht; sogleich nach der Lösung des Paraffins rasch durch Alkohol, 96 Prozent, und Alkohol-Äther durchgezogen und darauf übergossen

mit einer 3prozentigen Zelloïdinlösung, welche man wieder so viel wie möglich ins Gefäß abtropfen läßt.

Man erhält also eine sehr dünne Zelloïdinschicht auf dem Glas, welche man kurz an der Luft trocknen läßt und dann härtet in 50- bis 70prozentigem Alkohol, wenigstens 1 Stunde, aber am besten bis zum anderen Tag. Nun wird die Zelloïdinschicht mit einem in Alkohol, 70 Prozent, befeuchteten Messer ringsum zur beliebigen Größe umschnitten und das Objektglas in warmes Wasser gelegt, damit die Gelatine sich löst und der Zelloïdinfilm also frei kommt.

Färben. Die Zelloïdinfilme werden zuerst wieder chromiert, in 0·5prozentiger Chromsäurelösung 12 bis 24 Stunden oder in Weigerts Fluorchromlösung 3 Stunden auf dem Brutofen. Hiernach tüchtig abspülen in Wasser und färben in essigsaurer Hämatoxylinlösung (10prozentige alkoholische Hämatoxylinlösung 20, Eisessig 20, destilliertes Wasser 200) 12 bis 24 Stunden. Erwärmung auf dem Brutofen beschleunigt die Färbung.

Differenzieren. Nach Abspülen der Filme in Wasser werden sie vordifferenziert in 75 cm^3 einer gesättigten Lösung von Lithion carbonicum + 25 cm^3 einer 2prozentigen Lösung von rotem Blutlaugensalz, bis der Zelloïdinfilm entfärbt ist zu gelbbraun und die Faserzeichnung der Schnitte gerade sichtbar ist. Der Dicke des Zelloïdinfilms gemäß wechselt die hierfür benötigte Zeit von wenigen Minuten bis einigen Stunden. Dann abspülen in Aqua destillata, weiter nachdifferenzieren in einer 1promilligen Lösung von Kalium permanganicum $^1/_2$ bis 2 Minuten. Wenn diese sehr verdünnte Lösung in einem flachen Schälchen angewendet wird, so ist sie genügend durchsichtig, daß man die Differenzierung mit dem Auge beurteilen kann und also unterbrechen, wenn es ausreichend ist. Hierauf die Filme bleichen in gleichen Teilen 1 Prozent Oxalsäurelösung und 1 Prozent unterschwefligsaurer Natronlösung.

Aufheben. Nach längerem Auswaschen in destilliertem Wasser werden die Filme entwässert, aufgehellt in Karbolxylol und Xylol und eingeschlossen in Kanadabalsam ohne Deckglas, oder, wenn die Filme zu dick sind, mit einem Deckglase.

Keine Nachfärbung. Eine Nachfärbung mit Karmin oder dergleichen ist bei dieser Färbungsmethode überflüssig, weil die Zellen ganz gut zu erkennen sind. Die Zellkörper sind gelbbraun, die Kerne etwas dunkler, die Kernkerne schwarzbraun.

Zur Kontrolle habe ich von demselben Gehirn nach derselben Fixierung und Chromierung einen Teil eingebettet in Paraffin und einen anderen Teil in Zelloïdin und dann die Schnitte beider Teile auf die oben beschriebene Weise gefärbt und differenziert. Ich konnte nun gar keinen Unterschied zwischen den beiden Schnittserien sehen in Bezug auf die Markscheidenfärbung. Also beeinträchtigt die Einbettung in Paraffin die Färbbarkeit der Markscheiden (beim Anwenden meiner Methode) nicht bedeutend

Wenn die Zelloïdinfilme sehr dünn sind (und der obengenannten Gründe wegen ist dies empfehlenswert), ist das Übertragen derselben von der einen Flüssigkeit in die andere beschwerlich. Es ist dann zu empfehlen, das Film fortwährend in demselben Schälchen zu lassen und die Flüssigkeiten jedesmal darauf- und abzugießen. Wenn man mehrere Filme zu behandeln hat, so kann man jeden derselben in ein eigenes Schälchen bringen und dann die Flüssigkeiten der Reihe nach vom einen Schälchen ins folgende gießen.

[Eingegangen am 15. September 1915.]

Über zwei allgemein verwendbare Kameramodelle.

Von

Dr. E. Wychgram
in Kiel.

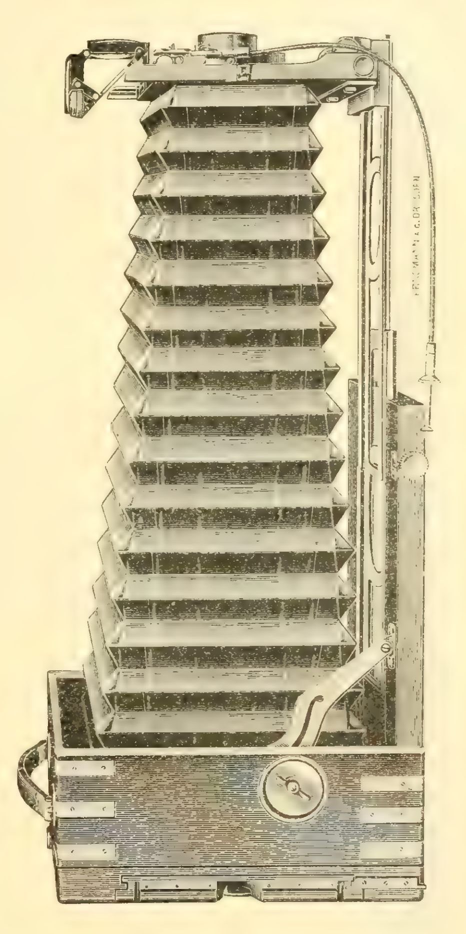
Hierzu zwei Textabbildungen.

In dieser Zeitschrift wurde vor kurzem eine von Ernemann in Dresden gebaute Spiegel-Reflex-Kamera ausführlich besprochen und ihre Verwendbarkeit für wissenschaftliche Zwecke dargelegt. Damit ist zum ersten Male der, wenn ich so sagen darf, profanen Kamera der Zutritt ins Laboratorium gestattet, und es lohnt sich, Umschau zu halten, ob sich nicht für wissenschaftliche Zwecke in weiterem Maße Modelle heranziehen lassen, welche ihre Entwicklung der sogenannten Liebhaberphotographie verdanken.

Wer die Entwicklung der Photographie und ihrer Hilfsmittel in den letzten Jahren verfolgt hat, weiß, daß der Liebhaberphotographie so gut wie alle Fortschritte der Technik zu verdanken sind, oft unmittelbar, oft natürlich nur mittelbar, indem sie durch Aufstellung neuer Forderungen fruchtbar und anregend wirkte. Dies gilt für die Optik, für die Photochemie und den Apparatebau in wechselndem Maße. Was nun letzteren anbelangt, so ergibt ein Überblick, daß der Kameratypus großen Schwankungen ausgesetzt war, die zumeist der Mode zuzuschreiben waren. Stellenweise rentierte sich die Produktion absolut einwandfreier Präzisionskameras, die nur in wenigen Ausführungsunterschieden auf den Markt kamen, nicht, weil mit der Popularität der Lichtbildkunst der Sinn für Präzision zurückging, und dafür von jeder „Saison“ ihre Sensation im Kamerabau verlangt wurde, bis selbst große Industriewerke vor dieser Fülle der Gesichte zurückschraken und sich zusammentaten, um sich damit auch zugleich auf ein gewisses Maß der Varietäten zu einigen (abgesehen von den kapitalistischen Gründen).

Heute stehen wir in der Mode der verschiedensten schweren Leichtmetallkameras. Zugunsten der Kompendiosität überwiegt in allen Teilen das Metall, das bei der Massenfabrikation sich am dank-

barsten verarbeiten läßt. Hierbei hat sich eine Art Kompromiß zwischen exakter Einzel-Präzisionsarbeit und grober Massenware herausgebildet, das man wohl als leidliche Massenmechanik bezeichnen kann. Fräsung und Stanze, dazu Vernicklung und Lackierung, sowie Formgebung befriedigt Auge und Hand der meist unverwöhnten Verbraucher.



1.

Wenn aus diesem gegen ältere schlechte Zeiten immerhin gehobenen Niveau Sondererscheinungen herausragen, so weiß man der Firma Dank, die in diesen Produkten sich nicht an die große Menge, sondern an feinere Bedürfnisse weniger einzelner wendet.

Zu diesen Produkten zählen die im folgenden zu besprechenden beiden Teakholzkammern der Firma Ernemann in Dresden.

Die Apparate bestehen nicht aus schweren Leichtmetallen, sondern aus leichten Schwerhölzern, und zwar aus Teakholz. Hier ist bei beiden eine sonst im Kamerabau ungewohnte ästhetische Stilgerechtigkeit durchgeführt, indem das edle Holz nicht mit dem so beliebten Lederbezuge beleidigt ist, sondern in vollendeter Politur und schöner, ausgesuchter Maserung freiliegt. Zu dieser angenehmen Offenkundigkeit des Materiales kommt hinzu, daß die Metallteile — Messing — ebensowenig mit einem konventionellen Überzuge verdeckt sind, also nicht vernickelt sind. Der ästhetische Eindruck dieser gediegenen Echtheit ist sehr wesentlich und wird

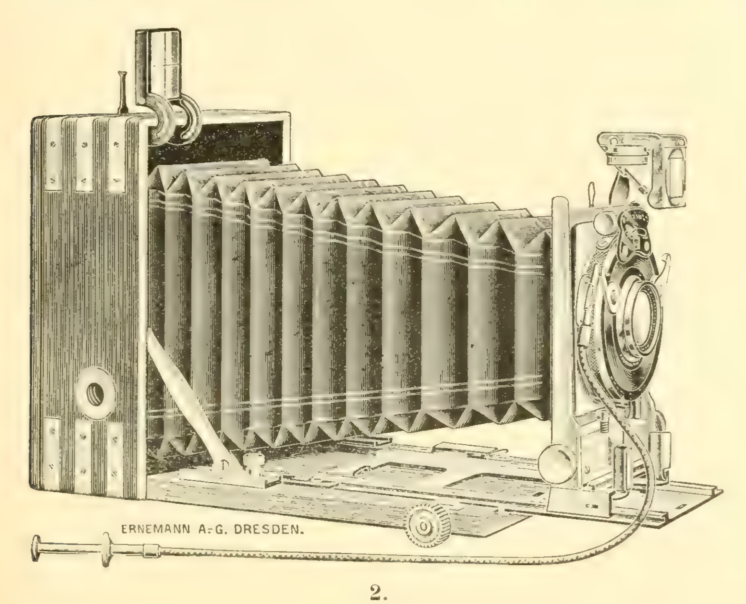
von wissenschaftlicher Seite sicher geschätzt werden, wenn man bedenkt, wie sehr jetzt auf harmonische Gestaltung wertvollerer Instrumente geachtet wird (Mikroskope, Lampen, optische Bänke usw.). — Der Harmonie zwischen Holz und Metall entspricht der braune juchtenartige Lederbalgen, der bei beiden Kameras schwer und gut unterlegt gearbeitet ist. Seine Länge ist bei der quadratischen (Fig. 1) etwa 40, bei der kleineren, nichtquadratischen Kamera (Fig. 2) etwa 30 cm.

Was nun die Konstruktion der Kamera im übrigen anlangt, so ist nicht allzuviel zu bemerken, weil jedes unnötige und unwesentliche Beiwerk vermieden ist, da diese Modelle nicht in Berücksichtigung irgendwelcher Modeforderungen gebaut, sondern eben für den Bedarf wissenschaftlich arbeitender Kreise konstruiert sind. Es kommt eben schließlich nur auf eine solide und zuverlässige dauerhafte Durchführung eines einfachen Prinzipes an, Objektiv und Bildebene miteinander in korrekter Beziehung zu halten, d. h. einen Objektivträger so zu gestalten, daß bei allen Verschieblichkeiten im Sinne einer optischen Achsenverlängerung und einer Parallelverschiebung der optischen Achse immer die präzise Rechtwinkligkeit der optischen Achse auf der Bildebene gewahrt bleibt. Dies ist bei beiden Kameras glänzend auch bei längstem Auszuge und mit einer gewissen Eleganz gelungen. Im einzelnen ist noch folgendes zu bemerken: Beide Kameras haben auswechselbare Objektivbretter, die quadratische solche von Teakholz, die kleinere solche von Messing. Die erstgenannte Kamera ist dabei so glücklich dimensioniert, daß die Auswechselbarkeit der Objektive auch wirklich ausgenutzt werden kann. So verwende ich an dieser Kamera z. B. das vielseitig brauchbare und vortreffliche Dogmar f : 4·5 von Görz, mit 18 cm Brennweite, in Compound, ferner das Bis-Telar f : 7·7 von 40 cm, von Busch, außerdem noch ein Heliar 15 cm von Voigtländer und ein Tessar als Universalinstrument f : 6·3, 16·5 cm (von Zeiss). Dazu läßt sich auch für einfache schwache Vergrößerungen die stabile Kamera mit schwachen Mikro-Objektiven verwenden, etwa mit den Luminaren von Winkel, oder Planaren von Zeiss. Hierbei kann man mit einem Objektivbrett auskommen, wenn man die schönen Schlittenwechsler von Zeiss benutzt.

Derartig große Objektive, wie das genannte Dogmar oder Bis-Telar lassen sich in der kleineren der beiden Kameras natürlich nicht unterbringen.

Besonders schön sind die bildseitigen Teile der Apparate ausgeführt. Bei der quadratischen sind Holzdoppelkassetten mit Neusilberschiebern neben einfachen Messingkassetten anwendbar. Und

zwar bleibt die Mattscheibe bei den dünnen Metallkassetten an der Kamera und wird von der eingeschobenen Kassette, welche in den Fokus tritt, zurückgedrückt. Die Handhabung der Holzdoppelkassetten zeigt eine sehr genaue Arbeit, so daß die Handgriffe weich und erschütterungsfrei sich vornehmen lassen. Dasselbe gilt von den Triebbewegungen, welche bei der quadratischen einen dreifachen Laufboden betätigen. Alle Metallteile sind kräftig, ohne allzu ängstliche Berücksichtigung des Gesamtgewichtes, ausgeführt.



2.

Die beiden besprochenen Apparate sind natürlich im gleichen Umfange auch am Mikroskop verwendbar, wie die von Wolff in dieser Zeitschrift besprochene Spiegel-Reflex-Kamera der gleichen Firma. Die Vorteile zweier Visiereinrichtungen etwa bei vertikaler Anordnung lassen sich durch einen aufgesetzten guten, d. h. genau planen und nicht zu dicken Spiegel leicht erzielen, auch die Benutzung des Schlitzverschlusses zu Expositionsskalen läßt sich durch den Kassettenschieber ersetzen. Im übrigen steht es fest, daß ein Schlitzverschluß für mikrophotographische Aufnahmen das denkbar unvorteilhafteste Instrument ist.

[Eingegangen am 18. Oktober 1915.]

Über einen Apparat, der als Fixierungsmeliorator und Entwässerungsbeschleuniger wirkt.

Von

Prof. Dr. Jan Hirschler
in Lemberg, Universität.

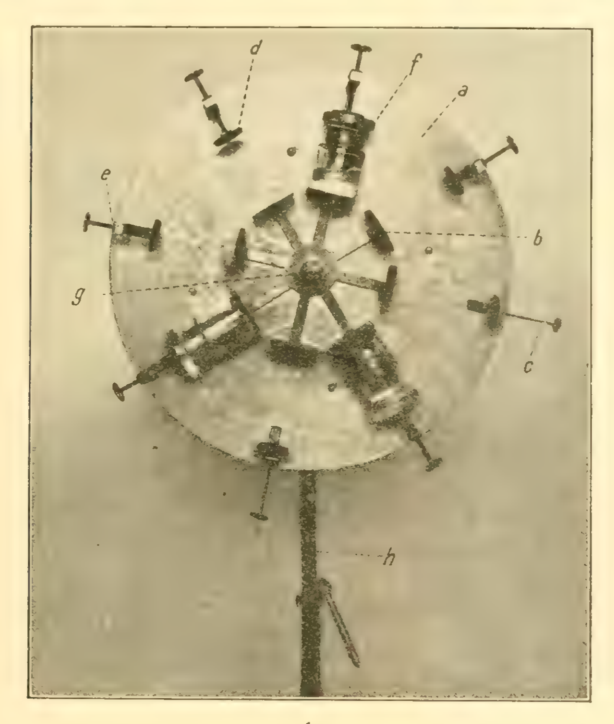
Hierzu drei Textabbildungen.

In den folgenden Zeilen erlaube ich mir über einen Apparat zu berichten, dessen Aufgabe zwiefach ist: Erstens die Fixierung der Untersuchsobjekte zu beschleunigen und somit auch zu verbessern, zweitens die Entwässerungsprozedur und das Verbleiben der Objekte in Intermedien auf eine womöglich kurze Zeit zu beschränken; unser Apparat wirkt also als Fixiermeliorator und Entwässerungsbeschleuniger.

In seinem einfachen Baue erinnert er an ein Mühlrad, wie es noch heute bei den Dorfmühlen, die mit Wasser getrieben werden, zu finden ist. Von der Vorderseite (Fig. 1) lassen sich an ihm folgende Teile sehen: Er besteht aus einer runden, aus dickem Zinkblech verfertigten Scheibe *a*, an der acht Klemmeinrichtungen angebracht sind. Zu jeder Klemmeinrichtung gehörten eine Unterlage *b* und eine Schraube *c*, die mittels eines kurzen Querstückes an die Scheibe *a* befestigt ist und am inneren Ende eine kleine runde Scheibe *d* trägt. Unterlagen, Querstücke und kleine Schrauben sind in Messing, Schrauben in Eisen ausgeführt. Die sich zugewandten Flächen der Unterlagen und der kleinen Scheiben *d* bedecken weiche Gummiplatten, wodurch die Fassung der Gläser *f*, in denen die Fixierung der Objekte vorgenommen und die in die Klemmeinrichtungen eingestellt werden, an Sicherkeit gewinnt. Die große Scheibe *a* ruht auf einer kurzen, horizontalen Achse (Fig. 1 u. 2 *g*), die mit einem Kugellager versehen und mit einem vertikalen Eisenstabe (Fig. 2 *h*) verbunden ist. An der hinteren Seite der Scheibe *a* befindet sich eine Reihe blecherner, prismenförmiger Fächer (Fig. 2 u. 3 *i*), welche nach unten von einem blechernen Behälter *k*, der am vertikalen Eisenstabe *h* befestigt ist, umfaßt werden.

Der Apparat wird mittels Wasser in Bewegung gesetzt, welches man aus einem Rohre in die Fächer *i* herabfließen läßt, wodurch die Scheibe *a* in Rotation gerät; aus den Fächern ergießt sich weiter das Wasser in den Behälter *k*, von wo es mittels eines Rohres *l* abgeführt wird.

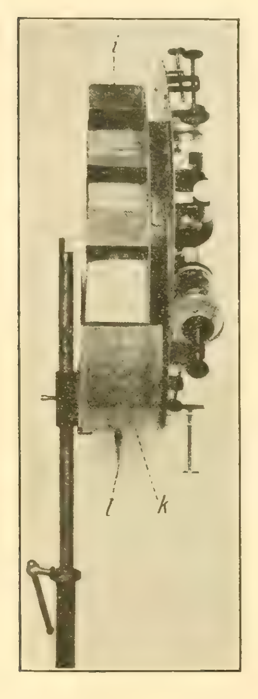
Beim Fixieren der Objekte ist auf folgende Weise vorzugehen: Man wählt sich genau schließende Gläser, deren Volumen der zur



1.

Fixierung nötigen Quantität des Konservierungsmittels annähernd gleichkommt und legt die zu untersuchenden Objekte hinein; hiernach bringt man die Gläser in die Klemmeinrichtungen, befestigt sie dort mittels der Schrauben *c* und setzt den Apparat in Bewegung. Da bei der Einhaltung der oben genannten Maßregel das Konservierungsmittel fast vollkommen die Gläser erfüllt, bleiben die Objekte ununterbrochen während der Scheibenrotation in ihm, was für das Gelingen der Fixierung von Wichtigkeit ist. Sind dagegen die Gläser unvollkommen gefüllt, so kleben sich oft die Objekte an den Wänden an und ver-

lieren zeitweise den Kontakt mit dem Konservierungsmittel. Die Gläser sind an der Scheibe so anzubringen, daß sie die Gleichmäßigkeit der Rotation nicht stören; soll die Wirkung des Apparates vollkommen ausgenützt sein, so muß die Rotation der Scheibe *a* ein Tempo haben, bei dem die Zentrifugalkraft auf die Lage des zu fixierenden Objektes eben noch ohne Einfluß ist; ein schnelleres oder langsameres Tempo würde die Wirkung des Apparates mehr oder weniger herab-



2.



3.

setzen. Das richtige Tempo ist leicht für ein bestimmtes Objekt zu finden, indem man mittels eines Hahnes den Zufluß des Wassers nach Wunsch reguliert und dadurch das entsprechende Rotationstempo erreicht.

Ich glaube den Fachleuten kaum näher beweisen zu brauchen, daß unser Apparat tatsächlich als Fixierungsmeliorator und Entwässerungsbeschleuniger wirkt. Ist das Rotationstempo richtig getroffen, so daß die Zentrifugalkraft die Lage des Objektes unbeeinflußt läßt, und letztere durch die Schwerkraft bestimmt wird, so trachtet das Ob-

jekt immer den tiefsten Platz im Glase einzunehmen; da nun dieser während der Rotation immer wechselt, verläßt das Objekt immerfort die ihn umgebende Zone, in der die Fixierungslösung durch die aus dem Objekte herausdiffundierenden Substanzen geschwächt ist, und tritt in Kontakt mit dem frischen, ungeschwächten Fixiermedium, was natürlich die Fixierung beschleunigt und verbessert, und was vor allem in Fällen, wo langsam diffundierende Mittel (wie Chromsäure, Chromsalze, Osmiumsäure) in Anwendung kommen, wertvoll ist. Dieselben Verhältnisse, die während der Fixierung stattfinden, herrschen natürlich auch während der Entwässerung, deren Beschleunigung, schon abgesehen vom Zeitgewinn, in denjenigen Fällen hauptsächlich in Betracht kommt, wo das längere Einwirken der Alkohole einen schädlichen Einfluß auf die Objekte ausübt, wie z. B. nach „vitaler" Methylenblaufärbung oder nach Fixierungen, denen Methoden zur Darstellung der Mitochondrien und anderer Lipoidstrukturen folgen sollen.

Die Wirkung dieses Apparates habe ich an Nematoden näher ausprobiert und als Beispiel möge angeführt sein, daß 1 cm lange Stücke von Ascaris lumbricoides und Ascarisembryonen, die mit einer dicken, undurchdringlichen Hülle umgeben sind, binnen 5 Stunden tadellos in Sublimat fixiert und hernach entwässert wurden, wobei auf die Fixierung und auf jeden einzelnen Alkoholgrad (70, 90, 96 Prozent, absol.) eine Stunde entfiel.

Erläuterungen der Textfiguren.

Figur 1. Der Apparat von vorne gesehen; *a* Rotationsscheibe, *b, c, d, e* Bestandteile der Klemmeinrichtung, *b* Unterlage, *c* Schraube, *d* Scheibe, *e* Querstück zur Befestigung der Schraube, *f* Fixiergefäß, *g* Achse, *h* eiserner Stab, an dem die Achse angebracht ist, *i* prismenförmiges Fach, *k* Behälter zum Auffangen des Wassers, *l* Rohr zum Abführen des Wassers (6·8fache lineare Verkleinerung).

Figur 2. Der Apparat von der Seite gesehen; die Bezeichnungen bedeuten dasselbe wie auf Figur 1.

Figur 3. Der Apparat von hinten gesehen; die Bezeichnungen bedeuten dasselbe wie auf Figur 1.

Wien, im Juni 1915.

[Eingegangen am 19. Oktober 1915.]

Über ein Verfahren zur gleichzeitigen Darstellung des Golgischen Apparates und der Mitochondrien des Zellenplasmas in differenten Farben.

Von

Prof. Dr. Jan Hirschler

in Lemberg, Universität.

Es ist seit jeher ein Bestreben der Cytologie gewesen, Methoden aufzufinden, die uns erlauben würden, mehrere, und zwar womöglich viele Zellenkomponenten im mikroskopischen Bilde gleichzeitig zur Darstellung zu bringen. Der Vorteil, welchen solche Methoden anderen gegenüber, die dies nicht leisten, dem Forscher bieten, ist klar: Sie ermöglichen ihm die gegenseitige Topographie der einzelnen Zellenkomponenten (-strukturen) genau zu studieren und daraus auf physiologische Beziehungen zu schließen. Seitdem wir im Golgischen Apparate und in den Mitochondrien Zellenkomponenten kennen gelernt haben, die wegen ihrer Allgemeinheit die Aufmerksamkeit vieler Cytologen an sich fesselten, schien es sehr erwünscht, Methoden zur Anwendung zu bringen, die uns die gleichzeitige Darstellung beider genannten Gebilde im Plasma ermöglichen würden.

Zwei Methoden entsprechen diesen Forderungen gewissermaßen, dies sind nämlich die Golgische Arsenikmethode und die Sjövallsche Osmiummethode, die — obwohl zur Darstellung des Golgischen Apparates erfunden — dennoch bei gewisser Modifizierung, welche für jedes bestimmte Objekt ausprobiert werden muß, auch zur „Schwärzung" der Mitochondrien vielerseits gebraucht wurden. Sind sich in einer bestimmten Zellenart der Golgische Apparat und die Mitochondrien ihrer physikalisch-chemischen Natur nach ziemlich gleich, so ist es möglich, beide gleichzeitig im Zellenplasma geschwärzt zu haben, wobei sich dann ihre Unterscheidung und Auseinanderhaltung auf ihre morphologische Differenz gründet, inwiefern diese vorhanden ist; fehlt sie dagegen, oder ist sie nur ganz gering, so wird die Deutung des cytologischen Bildes unmöglich oder wenigstens unsicher. Es würden leicht Fälle zu denken sein — und solche würden sich z. B. aus der Ovogenese mancher Tiere ergeben — wo beide Gebilde in gewissen

physiologischen Zuständen der Zelle z. B. in den jüngeren Ovozyten der Wachstumsphase oder in der ruhenden Zelle, morphologisch different sind, während sie in anderen physiologischen Zuständen z. B. in älteren Ovozyten oder während der Zellenmitose, sich in ihrer Morphe ziemlich gleich kommen, immer aber eine weitgehende physikalisch-chemische Ähnlichkeit zeigen; in solchen Fällen würde das Auseinanderhalten beider Gebilde und somit auch das Studium ihrer gegenseitigen Topographie nur auf bestimmte Stadien beschränkt bleiben müssen; man würde aber auch für die übrigen mit großem Rechte eine gewisse Verschiedenheit beider Gebilde, die mittels unseren heutigen Mitteln nicht festzustellen ist, vermuten können.

Nun sind uns aus der Apparat- und Mitochondrienliteratur Fälle bekannt, und einen solchen habe ich unlängst in den Ovozyten der Ascidien[1] gefunden, wo sich der Golgische Apparat und die Mitochondrien nicht gleichzeitig weder mit der Sjövallschen noch mit der Golgischen Methode darstellen lassen, was auf ihre chemisch-physikalische Differenz zu schließen erlaubt. In den halbausgewachsenen Ovozyten, wo beide Gebilde eine deutliche morphologische und topographische Verschiedenheit aufweisen, ist es leicht, aus der Kombination der Apparat- mit den Mitochondrienbildern, sich über ihre gegenseitige Lagebeziehung zu unterrichten; in den älteren Wachstumsstadien der Ovozyten dagegen, wo der komplexe Apparat in einen diffusen Zustand übergeht, sich über einen großen Bezirk des Plasmas ausbreitet und seine Elemente in ihrer Form und Größe allmählich den granulaförmigen Mitochondrien ähnlich werden, ist die Bezeichnung der gegenseitigen Topographie beider Plasmakomponenten immer mehr erschwert und unsicherer.

Um diesem Übel vorzubeugen, habe ich nun ein einfaches Verfahren in Anwendung gebracht, welches als Kombination der Kopschschen Osmiummethode mit der Altmannschen Anilin-Fuchsinmethode zu bezeichnen ist. Die zu behandelnden Objekte werden auf eine längere Zeit in 2prozentige Osmiumsäure eingelegt (mein Objekt d. i. Ascidien-Ovarien auf 15 bis 18 Tage bei einer Temperatur von 25° C) und nach Passierung der bekannten Medienreihe in 3 bis 4 μ dicke Paraffinschnitte zerlegt. Nach der Beseitigung des Paraffins folgt mittels einer schwachen (0·1prozentigen) wässerigen Kali hypermanganicum-Lösung eine womöglich gründliche Entfernung der Osmiumsäure, die so weit getrieben werden muß, bis die Schwärzung des

[1]) Meine Arbeit unter dem Titel „Über die Plasmakomponenten der weiblichen Geschlechtszelle (Cytologische Untersuchungen am Ascidien-Ovarium)“ wird demnächst im Archiv für mikroskopische Anatomie erscheinen.

Apparates eben noch intakt geblieben ist. Ist der Apparat klein oder diffus in kleinen Partikelchen im Plasma verteilt, so muß die Wirkung des Kali hypermanganicum mittels starken Systemen, eventuell mittels Immersion unter dem Mikroskop kontrolliert werden. Zu diesem Zwecke entfernt man in gewissen Zeitabschnitten mittels Wasser das Kali hypermanganicum vom Objektträger und schließt das Präparat provisorisch unter einem Deckglase in Glyzerin ein. Dieses Verfahren wiederholt man so lange, bis die ersten Kennzeichen der Apparat-Entschwärzung merklich werden. Sobald dies eintritt, wird die Wirkung des Kali eingestellt, indem man den Objektträger in Wasser, dann in schwacher (0·1prozentiger) Oxalsäurelösung und hernach wiederum in destilliertem Wasser auswäscht. Jetzt folgt die Färbung mittels Anilin-Fuchsins nach den Angaben Altmanns und dieser die Differenzierung mittels Pikrinsäure über einer Gasflamme, wobei ich mich gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung bedient habe. Über das Gelingen der Färbung möchte ich folgendes bemerken: Sie ist desto stärker und kontrastvoller, je gründlicher die Osmiumsäure aus den Schnitten entfernt wurde. Sie ist im Schnitte keineswegs gleichmäßig; in seinen peripheren Partien, wo eine „Überfixierung“ der Zellen stattfindet, wird das Fuchsin aus dem Plasma fast vollkommen durch die Pikrinsäure ausgezogen, die Färbung gelingt dagegen tadellos in den mittleren Partien des Schnittes, wo das Plasma weniger homogen fixiert, wo aber auch der Apparat in seiner Form (was am besten an halbausgewachsenen Ovozyten zu prüfen ist) noch ganz schön erhalten ist. An diesen Stellen finden wir im Plasma der Zellen beide Gebilde in differenten Farben tingiert: Neben dem schwarzen Apparate die roten Mitochondrien auf hellem grünlich-gelben Grunde, welchen Farbenton, obwohl in einer dunklen Nuance, auch die großen Dotterkerne annehmen.

Wie mittels Anilin-Fuchsin, lassen sich Osmiumschnitte, nach Anwendung der genannten Kautelen, auch mittels Kristallviolett nachfärben, nur ist dann der Farbenkontrast der dunkelblauen Mitochondrien neben dem schwarzen Apparate viel geringer, um nach Eisen-Hämatoxylin-Färbung vollkommen auszubleiben.

Wien, Juli 1915.

[Eingegangen am 19. Oktober 1915.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Die Kultur der Gegenwart. III. Teil, Abt. 3, Bd. 1: Physik unter Redaktion von E. Warburg. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1915. 762 pp. u. 106 Abbild.
geb. 22 M., geb. in Leinw. 24 M., Halbfranz. 26 M.

Wie aus dem Vorwort hervorgeht, stellt sich das Werk die schwierige Aufgabe, sowohl den Physiker von Fach als auch überhaupt das akademisch gebildete Publikum zu interessieren. Es wird in der üblichen Reihenfolge in einzelnen Kapiteln Mechanik, Akustik, Wärme, Elektrizität (und Magnetismus) und Optik behandelt, daran schließt sich als letztes Kapitel: Allgemeine Gesetze und Gesichtspunkte. Es stellt aber kein in sich geschlossenes Lehrbuch dar, die einzelnen Kapitel werden vielmehr von verschiedenen Autoren behandelt.

In der Mechanik werden die wichtigsten Forschungsergebnisse seit Galileis Zeit in ihrer geschichtlichen Entwicklung in anschaulicher Weise dargestellt. Der Leser gewinnt so ein Bild von dem Stand der Naturwissenschaft in den verschiedenen Epochen bis in die neueste Zeit hinein: wie die positiven Ergebnisse des Experimentes namentlich durch das Relativitätsprinzip gedeutet und die älteren Anschauungen in ganz neue Bahnen geleitet werden. Ein mathematischer Anhang beschließt das Kapitel.

Die Akustik ist auf einen kleineren Raum beschränkt: es werden die wichtigsten experimentellen Tatsachen besprochen und im Anschluß daran die Theorien, die im Laufe der Zeit aufgestellt wurden.

Die Wärmelehre zerfällt in zehn Abschnitte. Der wichtigste Begriff ist der des Wärmegrades; dieser in Verbindung mit dem Thermometer wird im ersten Abschnitt beschrieben. Daran schließt sich die Lehre von der Kalorimetrie. Die Thermodynamik bespricht

die grundlegenden Begriffe des ersten und zweiten Hauptsatzes, das Wesen der Entropie und die Quantentheorie von PLANCK. Im folgenden Abschnitt wird näher auf das Verhalten der Körper in den verschiedenen Aggregatzuständen eingegangen und die grundlegenden Gesetze und Experimente besprochen: die elastischen Eigenschaften der festen Körper, die inneren Vorgänge bei den Flüssigkeiten, die Diffusion, Absorption, Oberflächenspannung und Kapillarität. Dann folgt ein Abschnitt über den Zustand von Flüssigkeit und Gasen in Abhängigkeit von Temperatur und Druck; die Erklärung des Begriffes der kritischen Temperatur führt zu den interessanten Besprechungen über die Verflüssigung der Gase. Die Übertragung der Wärme durch Leitung und Strahlung bildet den Inhalt der beiden folgenden Abschnitte. Von besonderem Interesse ist die Wärmestrahlung. Als ein Bestandteil der Emission einer jeden Lichtquelle wird kurz auf die spektrale Zerlegung des Lichtes eingegangen und hauptsächlich jene interessanten Methoden zur Durchforschung der langwelligen Strahlen, der Wärmestrahlen besprochen, die den Übergang bilden zwischen dem eigentlichen Licht und den elektrischen Wellen. Dazu im Gegensatz stehen die Röntgenstrahlen, die äußerst kurzwelliges Licht enthalten. Die Theorie der Wärmestrahlen und die wichtigsten Gesetze finden wir im nächsten Abschnitt.

In anschaulicher Weise führt uns der Verf. des nun folgenden Abschnitts in die Welt der Atome, jener rätselhaften Körperchen, die seit den ältesten Zeiten den Menschengeist beschäftigen. Sind sie auch nicht direkt sichtbar, so gelingt es doch mit den heutigen Mitteln (Ultramikroskop) einen Einblick in das Leben und Treiben dieser winzigen Teilchen zu gewinnen, von denen namentlich die von dem Botaniker BROWN beobachtete Bewegung (BROWNsche Bewegung) das größte Interesse beansprucht. Durch Sichtbarmachung jener Teilchen sind die Vorgänge dem Experiment zugänglich gemacht, wodurch die Lehre der Atomistik eine wesentliche Förderung erfuhr. Anderseits boten sich dadurch den theoretischen Untersuchungen feste Anhaltspunkte über Zahl, Größe usw. der Molekel. —

Die Elektrizitätslehre ist in zwölf Abschnitten dargestellt und nimmt, wie zu erwarten, einen breiten Raum ein. Nach Besprechung der wichtigsten Grundlagen und Begriffe sind die geistreichen Versuche und Überlegungen von FARADAY, sodann die weiteren Folgerungen durch MAXWELL und die klassischen Versuche von HERTZ besprochen. Daran schließt sich die Elektronentheorie, die heute im Vordergrunde des Interesses steht. Die Lehre vom Magnetismus bildet den Inhalt der beiden folgenden Abschnitte; in knapper Form sind hier die wichtigsten Theorien und experimentellen Tatsachen gebracht. Dann folgen zwei Abschnitte über Funkentelegraphie, von den grundlegenden Versuchen von HERTZ bis in die neueste Zeit hinein. Nicht weniger interessant sind die nun folgenden Abhandlungen über Leitvermögen, Kathoden, Anoden und Röntgenstrahlen, woran sich dann

jenes verwandte Gebiet anschließt, in dem der Leser über die radioaktiven Strahlen, ihre Umwandlungen und Wirkungen auf die Lebewesen unterrichtet wird.

In fünf Einzelabschnitten wird die Optik behandelt. Ausgehend von den Anschauungen der Alten führt uns der Verf. des ersten Teiles ein in die interessanten und bedeutsamen Entdeckungen der Zerlegung des Lichtes, Brechung, Beugung, Interferenz und Polarisation, und zeigt, wie Experiment und Theorie eine Erklärung über das Wesen des Lichtes fordern, die in der elektromagnetischen Lichttheorie ihren Ausdruck findet. Die geometrische Optik enthält die Lehre von der Abbildung und behandelt eingehend den Zweck und das Wesen der optischen Gläser und Kombinationen, deren Bedeutung namentlich beim Mikroskop zutage tritt. Vermissen könnte man an dieser Stelle die Beschreibung des Ultramikroskopes, eines der wichtigsten Hilfsmittel der modernen Mikroskopie (Brownsche Bewegung!). Einen Überblick über die Spektralanalyse gibt der folgende Abschnitt; daran schließt sich eine Abhandlung über Struktur und Bedeutung einzelner Spektrallinien. Den Schluß bildet die Besprechung jener interessanten Experimente über das Verhalten des Lichtes in starken magnetischen (Zeemann-Effekt) und elektrischen (Stark-Effekt) Feldern, und die Schlußfolgerungen auf außerirdische Lichtquellen.

Das letzte Kapitel: „Allgemeine Gesetze und Gesichtspunkte" beschäftigt sich in fünf Abschnitten mit den Theorien und Prinzipien, wie es dem heutigen Stande der Physik entspricht. —

Bei der gewaltigen Ausdehnung und Spezialisierung der heutigen physikalischen Wissenschaft wird das Werk dem Fachmann wertvolle Dienste leisten, um sich auf fernerliegenden Gebieten zu orientieren; von ganz besonderem Nutzen aber dürfte es sich für diejenigen erweisen, die, auf verwandten Wissensgebieten arbeitend, sich näher mit dem Studium einzelner physikalischer Vorgänge befassen müssen, sowie auch für solche, die sich überhaupt für physikalische Fragen interessieren. *Eversheim* (*Bonn*).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Giemsa, G., Zur Schnellfärbung [Romanowsky-Färbung von Trockenausstrichen] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 7, p. 493—496).

Von den Romanowsky-Färbungen, die Verf. empfohlen hat, finden zwei allgemeine Verwendung: die gewöhnliche Methode (1904), welcher eine 30 Minuten währende Färbung vorausgeht[1] — und die

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 21, 1904, p. 522; Bd. 28, 1911, p. 481.

Schnellfärbemethode (1910), bei der man im ganzen mit 11 Minuten währender Behandlung auskommt.

Der Schnellfärbung haften, wie Verf. angibt, mehrere Mängel an:

1) Die Farbstammlösung büßt durch Verdünnen mit Azeton bzw. Methylalkohol an Farbkraft ein.

2) Aus demselben Grunde fixiert die methylalkoholische Mischung in der angegebenen Zeit nicht immer befriedigend; die Einwirkungsdauer zu verlängern ist aber nicht ratsam, da alsdann infolge Verdunstung des leichtflüchtigen Methylalkohols und Wasseranziehung aus der Luft die Entstehung von sehr lästigen Farbstoffniederschlägen unvermeidlich ist.

3) Die azetonische Mischung anderseits hat eine größere Fixierkraft und härtet in $^1/_2$ Minute ausreichend, muß aber wegen ihrer geringen Haltbarkeit möglichst von jeder Färbung frisch bereitet werden.

Verf. knüpft an eine ältere Beobachtung an, nach welcher bei Schnellfärbungen methylalkoholische Stammlösung mit maximalem Gehalt an Farbstoff und geringerem an Glyzerin gute Dienste tut; eine solche Lösung ist gut haltbar und wirkt durch ihren hohen Farbstoffgehalt energisch fixierend. Um über die Fixierkraft sich zu informieren, vergleiche man einen mit der genannten Farblösung behandelten Blutausstrich mit einem anderen, der mit einem entsprechenden farbstofffreien Methylalkohol-Glyzeringemisch (beide Male unter Nachfärbung in wässeriger Farbflotte) $^1/_2$ Minute lang behandelt worden ist: nur die auf dem ersten Weg erreichte Härtung ist befriedigend.

Der Wunsch, eine Methode zu finden, bei der man ebenso wie bei dem Verfahren von 1904 mit einer Stammlösung auskommt, ließ schließlich zu folgendem Verfahren kommen.

Verf. löst in der Wärme

	Azur II-Eosin	3·0 g	
	Azur II	0·3 „	
in	Glyzerin	25·0 „	+
	Methylalkohol	75·0 „	

Nach dem Abkühlen wird filtriert. Die Lösung ist dauernd haltbar. Von Dr. Hollborn ist sie als „Farbfixierlösung nach Giemsa“ zu beziehen.

Man legt den lufttrockenen, sehr dünnen Objektträgerausstrich mit der Schichtseite nach oben in ein trockenes, auf horizontaler Fläche stehendes „Farbewännchen“[1]; Petrischalen sind ungeeignet. Auf das Präparat träufelt man aus einem Tropfgläschen so viel Farbfixierlösung, bis die Schichtseite völlig benetzt ist; 8 bis 10 bis 15 Tropfen

[1]) „Farbewännchen für die Schnellfärbung nach Giemsa“ werden nach den Angaben des Verf. bei C. Zeiss-Jena hergestellt.

pflegen hierzu erforderlich zu sein; Überfließen der Lösung über den Objektträgerrand ist zu vermeiden. Dann deckt man die Wanne mit einer Glasscheibe zu und läßt die Farblösung eine halbe, keinesfalls länger als 1 Minute wirken. Darauf gießt man eine inzwischen in weitem Maßzylinder bereitete Mischung von 10 cc destilliertem Wasser mit 10 Tropfen der Farbfixierlösung oder der 1904 empfohlenen Mischung

Azur II-Eosin	3·0 g	
Azur II	0·8 „	
in Methylalkohol	375·0 „	+
Glyzerin	125·0 „	

so daß die Objektträger völlig unter Flüssigkeit gesetzt sind. Nach gutem Durchmischen der Farbflüssigkeiten bleibt das Ganze 10 Minuten stehen. Dann wird das Präparat in Wasser abgespült, abgetupft, getrocknet und in flüssigem Paraffin oder säurefreiem Balsam eingebettet. Ein von Dr. Hollborn gelieferter „Neutralbalsam" scheint sich auch bei den Romanowsky-Präparaten besser zu bewähren als die gewöhnlichen Sorten.

Die neue Methode unterscheidet sich von den früheren namentlich dadurch, daß das gefärbte Präparat nicht mit Wasser, sondern mit einer wasserverdünnten, stark übersättigten Farbstofflösung nachbehandelt wird. Dadurch wird vermieden, daß den gefärbten Objekten wieder Farbstoff entzogen wird; die neue Methode liefert viel farbkräftigere Bilder. Besonders gute Konservierung und Differenzierung beobachtete der Verf. auch bei den Granulationen der Protisten und der Blutzellen.

Bei allzu dicken Ausstrichen wirkt die Färbung der serösen Anteile des Materials oft lästig. Um diesem Übelstand zu begegnen, empfiehlt Verf. das lufttrockene Präparat 1 Minute in destilliertes Wasser oder in physiologische Kochsalzlösung zu legen, abermals trocknen zu lassen und dann erst zu färben. Die serösen Bestandteile gehen hierbei in Lösung, die korpuskulären bleiben erhalten. Spirochäten kommen besonders schön zum Ausdruck.

Zum Schluß weist Verf. auf die Aussichten hin, daß für besondere Zwecke durch Variation des Mischungsverhältnisses Azur-Eosin: Methylenblau-Eosin, den beiden Bestandteilen des Azur II-Eosin, sich vielleicht besondere Methoden finden lassen werden.

Küster (Bonn).

Kingsbury, B. F., Cytoplasmic fixation (The Anatomical Record vol. **6**, 1912, no. 2, p. 39—52).

Von den zur Fixierung des Protoplasmas benutzten Chemikalien bilden Osmiumsäure, Kaliumbichromat und Formol eine Gruppe (Fischers Gruppe II) und besitzen einige gemeinsame Eigenschaften. Ihnen kann man auch Chromsäure zurechnen, die natürlich zu den

Bichromaten gehört. Diese Stoffe sind bekanntlich sehr geeignet, um das Cytoplasma zu erhalten. Hierfür spricht schon die große Anzahl von Fixierungsflüssigkeiten, in denen diese Stoffe wesentlich mitwirken: die Flüssigkeiten von Altmann, Benda, Bensley, Helly, Kopsch, Orth, Regaud u. a., ferner solche Flüssigkeiten, in deren Zusammensetzung sie wesentlich zum Erfolge beitragen: die Flüssigkeiten von Zenker, Tellyesniczky usw. Bei den Formeln der ersten Gruppe (Flüssigkeiten von Altmann usw.) dienen sie zur Erhaltung von cytoplasmatischen Granula von sicher verschiedener Art, so von pepsinogenen und trypsinogenen Granula ebenso wie für solche anderer Art, einschließlich der Mitochondria (Chondriosomen). Sie erhalten nicht nur die labileren Granula, die in dem Cytoplasma vorkommen, sondern bewirken auch eine ausgezeichnete Erhaltung der allgemeinen Form des Cytoplasmas. Die Flüssigkeiten von Orth und Helly sind besonders und verdientermaßen bekannt als Konservierungsmittel für so schwierige Zellen, wie z. B. die der Nierenkanälchen. Als Fixierungsmittel besitzen sie drei hervortretende Eigenschaften: 1) im Gegensatze zu anderen als Fixierungsmittel verwendeten Chemikalien bewirken sie keine Koagulierung oder einen Niederschlag der Proteïne. Das eigenartig gelatinöse Aussehen, welches Formol den Geweben verleiht, ist charakteristisch und bekannt. Bei den Bichromaten und der Osmiumsäure maskiert die Bräunung und Schwärzung die gelatinierende Wirkung. Aus der Tabelle von Mann (Mann, G., Physiological Histology, Oxford, 1903) geht hervor, daß die einzige Proteïnsubstanz, die von ihnen niedergeschlagen wird, das Hämoglobin ist, und daß die übrigbleibenden Proteïne nur in sauren Lösungen niedergeschlagen werden. Der Niederschlag des Hämoglobins in einer unlöslichen Form kann vielleicht als in Verbindung stehend mit einer Oxydation angesehen werden. Die Wirkung dieser Chemikalien auf Proteïne ist übrigens zurzeit noch nicht hinreichend erklärt. Jedenfalls haben sie aber eine ähnliche Wirkung und gehören zu einer Gruppe. 2) Sie sind ausgezeichnete Oxydationsmittel. Bei Osmiumsäure und Kaliumbichromat ist das leicht verständlich. Formol ist eine reduzierende Substanz und könnte auf den ersten Blick als gerade entgegengesetzt wirkend den beiden anderen erscheinen. Chemiker haben indessen mitgeteilt, daß Formol in seinen Beziehungen zu vielen organischen Substanzen, und so wahrscheinlich auch zu den Proteïnen, sich im wesentlichen als ein Oxydator verhält, indem es ein Sauerstoffatom abgibt, das sich mit zwei Atomen Wasserstoff verbindet, während der Rest des Formolmoleküls (CH_2) in das reduzierende Molekül aufgenommen wird (Methylenisierung). Wahrscheinlich auf Grund dieser Oxydationsfähigkeit haben diese Chemikalien einen besonderen Wert als Konservierungsmittel für Fett. 3) Diese Substanzen können nur wenig oder gar nicht zur Erhaltung der Kernstrukturen dienen. Kaliumbichromat löst die Kernstrukturen direkt, wie Burchardt nachgewiesen hat (Burchardt, E., Bichromate und

Zellkern [La Cellule, t. 12, 1897]). In dieser Hinsicht zeigen Bichromate von verschiedenen Metallen, wie der genannte Autor nachwies, deutliche Unterschiede: Kalziumbichromat und Kupferbichromat wirken günstig als Kernfixierungsmittel. Das homogene, strukturlose Aussehen der in einfacher Kaliumbichromatlösung (z. B. Müllerscher Flüssigkeit) fixierten Kerne ist bekannt. Auch Osmiumsäure verleiht dem Kerne ein charakteristisches, homogenes, glasiges Aussehen, bei dem Chromatindetails nicht hervortreten. In bezug auf das Formol gehen die Ansichten über seinen Wert als Fixierungsmittel für die Kernstruktur weit auseinander. Es ist dabei allerdings zu berücksichtigen, daß das Formol selten rein angewendet wird, gewöhnlich ist in ihm eine geringe Menge von Ameisensäure enthalten. Sicher ist, daß es weit besser wirkt als die beiden anderen genannten Chemikalien, doch ist es nach Verf. immerhin ein mangelhaftes Konservierungsmittel für Kernstrukturen. Bei den Fixierungsflüssigkeiten der ersten Gruppe (Flüssigkeit von Altmann usw.), die zur Fixierung des Cytoplasmas dienen, fehlen Essigsäure oder andere Säuren, deren Anwesenheit für die Kernfixierung und für die allgemeine Fixierung so wesentlich ist, oder sind nur in minimalen Mengen vorhanden. Besonders gilt dies für die Konservierung von Cytoplasmagranula. Diese Chemikalien sind hervorragende Konservierungsmittel für cytoplasmatische Granula einer bestimmten Klasse. Mit ihrer Hilfe stellte Altmann seine Granulatheorie auf, die zurzeit wieder aufgelebt ist als Mitochondriatheorie. Die Zusammensetzung der cytoplasmatischen Fixierungsflüssigkeiten spricht dafür, daß ihre Wirksamkeit abhängt von dem Vorhandensein von reduzierenden Substanzen. Bei der gebräuchlichen Technik wird das Bichromat reduziert und liefert dem reduzierenden Protoplasma Chromoxyd, das festgehalten wird. Ist die Substanz stark reduzierend, so tritt die Chromierung augenblicklich ein und wird angedeutet durch die braune Farbe, wie z. B. bei der Nebennierenreaktion. In allen anderen Fällen ist der Vorgang langsamer oder ergibt nur eine kaum bemerkbare Färbung. Von der Chromierung hängt indessen die darauf folgende differenzierende Färbung ab. Verf. macht darauf aufmerksam, daß das Bichromat und die Chromsäure, obwohl anscheinend entgegengesetzt in ihrer fixierenden Wirkung, im Grunde doch dieselbe Einwirkung haben müssen. Wenn man theoretisch auch annehmen kann, daß eine Säurereaktion der Fixierungsflüssigkeit die Einwirkung auf Proteïne erleichtern dürfte, so würden doch die Oxydierungsfähigkeit und die Chromierung dadurch nicht begünstigt werden. In bezug auf die Mitochondria indessen scheint, in vielen Fällen wenigstens, die Reaktion von der Anwesenheit der Substanzen abzuhängen, die durch Säuren, starken Alkohol, Chloroform, Äther usw. gelöst oder verändert werden. Solche reduzierenden Substanzen finden sich unter den Lipoiden. Wenn die Anwendung von Fixierungsflüssigkeiten für das Cytoplasma auch einen Erhaltungszustand liefert, der für die Untersuchung der Vor-

gänge im Zellkörper sehr nützlich ist, muß man doch vom morphologischen Standpunkte aus sehr vorsichtig sein, wenn man Schlüsse aus den Ergebnissen einer so speziellen Technik ziehen will. Die erste Frage betrifft da die Natur der Substanzen, von der die Methode abhängt, die zweite den Anteil der Substanzen und der Strukturen an der Zelltätigkeit. So liegt die Sache auch bei der Mitochondria. Von den oben empfohlenen Fixierungsflüssigkeiten hält Verf. die von Helly oder die Zenker-Formol-Flüssigkeit für die besten, wobei anstatt 5 Prozent 10 Prozent Formol zu der ursprünglichen Zenkerschen Flüssigkeit zugesetzt wird. Neuerdings hat man statt des Kaliumbichromats Kupferbichromat mit gutem Erfolge verwendet, da das letztere zur Fixierung des Chromatins geeigneter ist. Da ferner die Weigertsche Färbung mit Kupferhämatoxylin beliebt ist, so eignet sich auch aus diesem Grunde die Kupferfixierung am besten. Eine geeignete Flüssigkeit ist die folgende: ein Teil einer 10prozentigen Lösung von Kupferbichromat, ein Teil einer 4prozentigen Lösung von Kupfersulfat, zwei Teile einer gesättigten Lösung von Sublimat, Formol 10 Prozent. Da diese Flüssigkeit, ebenso wie die von Helly, unbeständig ist, muß sie jedesmal frisch zusammengegossen werden. Dauer der Fixierung nicht länger als 24 Stunden, dann Abspülen und Übertragen des Gewebsstückes in eine einfache 2·5prozentige Lösung von Kupferbichromat, falls eine weitere Kupferbeizung erwünscht ist. Drei Tage genügen für diese Beizung, um eine ausgezeichnete Weigert-Färbung des Nervensystemes zu ergeben. Ist eine besonders gute Erhaltung des Cytoplasmas erwünscht, so soll man (nach Bensley) das Formol zuerst durch sorgfältige Neutralisierung und Redestillation von Säure befreien. Im allgemeinen erscheint ein geringer Säuregehalt günstig für die Fixierung, da er eine Säurereaktion ergibt, besonders, wenn es sich um die Erhaltung von Fett handelt. Zu diesem Zwecke soll man dann zwei oder mehr Tropfen von Eisessig zu 100 cc Formol hinzufügen. Die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung ist sehr gut, doch hat die Kupferhämatoxylinfärbung einige Vorteile: neuerdings haben die Untersuchungen von Meves bei Ascaris gezeigt, wie ausgezeichnet die ursprüngliche Altmannsche Technik für die Färbung der Mitochondria ist. Die oben erwähnten Fixierungsflüssigkeiten sind natürlich nicht für alle Teile des Cytoplasmas geeignet, so werden bei der Zellteilung die Spindeln und Sternstrahlungen besonders schlecht differenziert.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Roerdansz, W., Vereinfachte und zuverlässige Methode der Blutkörperchenzählung (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 46, p. 1962—1964 m. 4 Figg.).

Das Bestreben, das zur Zählung von Blutkörperchen notwendige Instrumentarium auf ein möglichst geringes Maß zurückzuführen und mit den betreffenden Instrumenten die die Blutkörperchenzählung vor-

bereitenden Arbeiten genau auszuführen, hat zur Konstruktion von einigen Geräten geführt, die näher beschrieben werden. Zur Ausführung des Abmessens von Blut und Verdünnungsflüssigkeit (Hayemsche Lösung, verdünnte Essigsäure), ferner zum Mischen der abgemessenen Flüssigkeiten und zum Übertragen der Blutmischung auf die Zählkammer kommt bei der hier beschriebenen Methode nur ein einziges Gerät zur Anwendung, die „Blutmischpipette", so daß für die gesamten Arbeiten bei einer Blutkörperchenzählung nur zwei Instrumente in Betracht kommen, die „Mischpipette" und die „Zählkammer". — Die „Blutmischpipette" wird in zwei verschiedenen Formen angewendet: während bei dem einen Instrumente, der „automatischen Blutmischpipette", die messenden Räume automatisch mit Blut und Verdünnungsflüssigkeit gefüllt werden können, werden bei der anderen Mischpipetteform diese beiden Flüssigkeiten nacheinander bis zu einer bestimmten Marke eingesogen. Jede der beiden Pipetten ist ein tadellos funktionierendes Präzisionsinstrument, bei dem die Abmessung sowie die Mischung der Flüssigkeiten auf das genaueste ausgeführt werden kann. Diese beiden Pipetten, die automatische „Blutmischungspipette" und die „Blutmischpipette mit besonderem Mischraume", werden dann an der Hand von Abbildungen genauer beschrieben. — Die von dem Verf. angewandte „Zählkammer" lehnt sich in ihrer Konstruktion an die Bürkersche Zählkammer an. Auf eine plangeschliffene Objektplatte sind in der Richtung ihrer Längsseite drei parallel zueinander verlaufende Glasleisten aufgekittet. Die Höhendifferenz zwischen dem bedeutend längeren äußeren Leistenpaare und der Mittelleiste, auf deren Oberseite sich eine 10 qmm große Netzteilung befindet, beträgt genau 0·100 mm. Auf den Leisten ruht eine einarmige Blattfeder, deren Arm in eine oval ausgeschnittene Rundung übergeht. Zwischen Blattfeder und Glasleisten wird ein nach dem Federarme zu mit abgeschrägter Kante versehenes Deckgläschen eingeschoben. Das Zählnetz ist in 20×8, also 160 größere Quadrate von 0·25 mm Seitenlänge geteilt. Durch deutliche Linienmarkierungen sind je 16 dieser größeren Quadrate zu einem größten Quadratkomplexe von 1 qmm Flächeninhalt zusammengesetzt. Die beiden mittelsten, parallel zu den kürzeren Seiten der Objektglasplatte gelegenen Quadratreihen von 1 qmm Flächeninhalt sind in 320 kleinere Quadrate geteilt, deren Seiten 0·05 mm lang sind und deren Anordnung so getroffen ist, daß angrenzend am oberen und unteren Rande des Zählnetzes je 80 Quadrate zu einem Komplexe vereinigt sind, während sich in der Mittelzone ein aus 160 kleineren Quadraten gebildeter Quadratkomplex befindet. Die Zählnetzlinien treten selbst bei 300facher Vergrößerung als scharfgezogene, hellgrauviolettschimmernde Linien deutlich hervor, eine Erscheinung, die den Wert der Netzteilung bedeutend erhöht und die Zählung der Blutelemente wesentlich erleichtert. Anderseits ist für die schnelle Berechnung der Bluteinheit pro 1 qmm die ganze Anordnung der

Zählquadrate im Zählnetze von großer Bedeutung. Verf. gibt sodann eine genaue Beschreibung der Benutzung dieser Zählplatte. Man braucht, wenn man die üblichen Verdünnungen von 1 : 10 bzw. 1 : 200 innehält und 160 große bzw. 80 kleine Quadrate des Zählnetzes durchgezählt hat, die erhaltene Anzahl der Leukozyten bzw. der Erythrozyten nur mit 10 bzw. mit 10000 zu multiplizieren, um die für 1 qmm reinen Blutes gesuchte Anzahl weißer oder roter Blutkörperchen zu erhalten. Der Verdünnungsfaktor des Blutes ist indessen, soweit nicht automatische Abmeßvorrichtungen benutzt werden, variabel. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes, sowie der Quadraturanordnung im Zählnetze wurden mehrere Hilfstabellen ausgerechnet, die jeder Kammer beigegeben werden und bei deren Anwendung die umfangreichen und zeitraubenden Umrechnungen erspart werden. — Zuletzt bespricht Verf. die für diese Methode geeignete Transportmethode der Blutflüssigkeit von der Pipette auf das Zählnetz der Zählkammer. Abweichend von der in Deutschland gebräuchlichsten Methode nach Thoma-Zeiss, geschieht bei der beschriebenen Kammer die Übertragung des Blutgemisches von der Pipette auf die Zählkammer in der Weise, daß der aus dem seitlichen Ansatzrohre der Pipette heraustretende Tropfen sofort auf die mittlere Glasleiste in die Nähe des Zählnetzes aufgesetzt wird, worauf der Tropfen durch das Deckglas, das jetzt erst seitlich nach dem Zählnetze zu verschoben wird, aus seiner Lage gebracht und über das Zählnetz geschoben wird. Durch diese seitliche Tropfenverschiebung werden die in der Flüssigkeit suspendierten Blutkörperchen während der gesamten Bewegungsdauer des Deckgläschens durcheinander gewirbelt, so daß die Verteilung der Blutkörperchen durchaus gleichmäßig sein muß, und dies um so mehr, da ja das Deckglas stets, also auch während der Bewegung, unter gleichmäßigem Federdrucke steht. Mit dem Aufhören der Bewegung des Deckglases kommt auch die über dem Zählnetze lagernde Schicht zum Stillstande, worauf die Blutkörperchen auf den Boden der Kammer, auf das Zählnetz, niedersinken. — Nach Verf. erfolgt bei dieser Methode ein größeres Abmessen von Blut und Verdünnungsflüssigkeiten, diese Flüssigkeiten werden im selben Geräte exakt gemischt und aufbewahrt und aus der so gemischten Blutflüssigkeit sinken dank der eigenartigen Transportmethode von der Pipette auf das Zählnetz die Blutkörperchen schließlich in vollkommen gleichmäßiger Weise auf das Zählnetz nieder. Die neue Methode ist daher eine wesentlich vereinfachte und zuverlässige Methode der Blutkörperchenzählung. — Der Preis der Kammer beträgt 24 M., der der Pipetten 15 bzw. 8 M. Die patentamtlich geschützten Instrumente liefert die Firma Carl Zeiss in Jena bzw. die Glaspräzisionstechnische Werkstätte von Albert Sass in Berlin N. 113.

Schiefferdecker (Bonn).

Evans, H. M., u. Schulemann, W., Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für pharmakologische Probleme. Ein Beitrag zur Pharmakologie kolloider Lösungen. Mit einem kolloid-chemischen Beitrag von F. Wilborn (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 30, p. 1508—1511).

Der Begründer der Vitalfärbungsmethodik ist Ehrlich, von ihm ist auch die bisher einzig in Betracht kommende Theorie über das Wesen der vitalen Färbung, über die Verteilung der Farbstoffe im lebenden Organismus, aufgestellt: die „Seitenkettentheorie". Es war daher die erste Aufgabe zu prüfen, ob auch für die Reihe der sauren Farbstoffe Ehrlichs Auffassung zu Recht besteht, daß die Verankerung der Farbstoffe im Zelleibe durch eine chemische Reaktion zwischen den „Rezeptoren" von Farbstoff und Zelle stattfindet. Die Verff. erhielten Vitalfärbung bei Farbstoffen mit den heterogensten „Rezeptoren" und den verschiedensten chemischen Konstitutionen, während sich anderseits viele Farbstoffe mit gleichen „Rezeptoren" biologisch verschieden verhielten. Die „Seitenkettentheorie" ließ demnach auf diesem Gebiete völlig im Stiche. Die Verff. ziehen hieraus den Schluß, daß chemische Reaktionen im Sinne Ehrlichs zwischen den sogenannten Rezeptoren der sauren Farbstoffe und lebenden Zellen nicht stattfinden. Aus den Versuchen ergab sich weiter, daß die Verteilung saurer Farbstoffe im Tierkörper abhängig ist von ihrem physikalischen Lösungszustande. Ferner, daß alle vital färbbaren Zellen durch Phagocytose bestimmte Körper in sich aufnehmen, so die großen Anionen der Elektrolytlösungen saurer Farbstoffe, die „Amikronen" (Moleküle und kleine Molekülaggregate) semikolloider Lösungen, die „Ultramikronen" (große Molekülaggregate) semikolloider und suspensionskolloider Lösungen von sauren Farbstoffen, mit Metallen usw., endlich suspendierte gröbere Teilchen, wie Ruß, Bakterien. — Verschiedenheiten bestehen nur für die Verbreitung der injizierten Substanzen vom Injektionsorte aus, und der Verbreitungsbereich ist allein abhängig vom physikalischen Lösungszustande. Ist die Diffusionsfähigkeit groß (Elektrolyt- und Semikolloidlösungen), so verteilen sich die injizierten Substanzen über den ganzen Organismus und werden in allen vital färbbaren Zellen abgelagert. Sinkt die Diffusionsgeschwindigkeit, oder wird sie gleich Null, so wird der Verteilungsbereich enger, und schließlich bleiben die Substanzen am Injektionsorte liegen, werden aber auch hier von den vital färbbaren Zellen aufgenommen. So findet sich ein kontinuierlicher Übergang vom biologischen Verhalten elektrolytgelöster Substanzen bis zu groben Suspensionen, prinzipielle Unterschiede bestehen nirgends, nur graduelle. Die Verff. definieren daher die Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen und die Verteilung der untersuchten Kolloidlösungen und Suspensionen als Phagocytose großer Anionen, Amikronen, Ultramikronen

und gröberer suspendierter Teilchen. Diese Theorie stellen die Verff. aber nur auf für die sauren Farbstoffe und für die von ihnen untersuchten Kolloide. Sie heben dabei hervor, daß alle von ihnen auf ihre Verteilung im Organismus untersuchten Verbindungen und Elemente im elektrischen Potentialgefälle anodische Konvektion zeigen. Vielleicht ist das identische biologische Verhalten scheinbar so heterogener Substanzen auf diese physikalische Eigenschaft zurückzuführen. In Beziehung auf die Lipoidtheorie ist noch zu erwähnen, daß die untersuchten Substanzen lipoidunlöslich sind, die Verff. lehnen für die hier in Betracht kommende Kategorie von Zellen die Anwendung der Lipoidtheorie ab. Sie konnten weiter direkt experimentell nachweisen, daß die Farbstoffgranula und die durch andere Substanzen erzeugten in den lebenden Zellen reine Substanzkörnchen sind, die als Fremdkörper im Protoplasma liegen. Irgendwelche präformierten Grundlagen haben diese Granula nicht, ebensowenig werden solche Stoffwechselprozesse wie etwa die Produkte „innerer Sekretion“ dargestellt. Auch Reaktionen chemischer Natur vermag uns diese Art der Vitalfärbung nicht kenntlich zu machen. Die Granula entstehen durch die Koagulation kolloider Lösungen bei Injektion der verwendeten Substanzen. Die vitale Färbbarkeit einer Zelle ist also allein das Zeichen für einen gewissen physiologischen Charakter des Protoplasmas einer bestimmten Kategorie von Zellen. Die Farbstoffe gelangen durch Phagocytose der Amikronen, Ultramikronen und deren Aggregate in das kolloidale System des Protoplasmas. Durch Koagulation der kolloiden Lösungen entstehen kleine Konkremente, die verstreut als Fremdkörper im Protoplasma liegen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Loele, W., Beitrag zur Morphologie der Phenole bindenden Substanzen der Zelle (Virchows Arch. Bd. **217**, 1914, H. 3, p. 334—351 m. 16 Figg. im Text).

Zur Prüfung der Brauchbarkeit der Phenollösungen hält man sich am besten Organteile in Formollösung vorrätig, welche reichlich eosinophile Zellen enthalten. Die alkalische α-Naphthollösung ist dann gebrauchsfähig, wenn die Granula dieser Zellen fast sofort, meist schon makroskopisch erkennbar, gefärbt werden. Das ist für manche pflanzlichen Objekte und überhaupt für diejenigen Stoffe sehr wichtig, welche nur schwache Phenolreaktionen geben. Tritt nämlich nicht in kurzer Zeit die Färbung ein, so werden die phenolbindenden Substanzen zerstört und ergeben die Reaktion nicht mehr. Für die α-Naphthol-Gentianalösung gilt das gleiche, die α-Granula müssen in einer solchen Lösung bereits nach einigen Minuten nicht schwarz, sondern blau erscheinen, dann ist Aussicht auf gute Dauerpräparate vorhanden. Wenn man auch die phenolbindenden Substanzen mit Hilfe von Peroxydase-Reaktionen (Benzidin-H_2O_2) darstellen kann, so ist es doch fraglich, ob alles, was durch Benzidin darstellbar ist, auch in die Gruppe der Phenolreaktionen gehört. Sicher gehört nicht

hierher die von Feichel beschriebene Peroxydase-Kernfärbung mit Tolidin (bzw. Benzidin). Indessen zeigt sich doch, daß bei Anwendung bestimmter Methoden im wesentlichen nur das dargestellt wird, was auch die Naphtholreaktion gibt (eine Ausnahme machen die pseudoeosinophilen Granula vom Kaninchen, die mit Naphthol darzustellen dem Verf. nicht recht gelang, während sie durch Benzidin gut färbbar waren). In menschlichen Blut- und Knochenmarkpräparaten dürften die Resultate der Benzidinfärbung mit der Naphtholfärbung übereinstimmen. Ganz identisch sind die Resultate bei verschiedenen Methoden überhaupt nie, da die Granula der Leukozyten immer einige Veränderungen erleiden. Die Indophenolblaumethode mit alkalischen Lösungen (F. Winkler, W. H. Schultze) dürfte vielleicht die gleichen Ergebnisse haben wie die Naphtholmethode, da sie aber nur das Vorhandensein von Oxydasen beweist (sie läßt keinen Schluß auf den Chemismus der Bindung zu), so ist sie als Reaktion zum Nachweise von Substanzen, die Phenole binden, nicht geeignet. Auch die α-Naphthol-Gentiana-Methode ist stets unter gleichzeitiger Kontrolle mit Naphthollösung allein anzuwenden. Sie ist für die vergleichende Untersuchung und besonders für den Nachweis feinster Körnchen nicht zu entbehren. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Metz, C., Okularzählplatte (München. med. Wochenschr. Jahrg. 61, 1914, No. 18, p. 991—993 m. 1 Fig.).

Die Zählplatte, von der Verf. eine Abbildung gibt, wird in der Blende des Okulares II gefaßt und dient mit Objektiv 6 in Verbindung mit den Thomaschen Mischpipetten und einer Zählkammer zum Abzählen und bequemen Berechnen der roten und weißen Blutkörperchen. Die Okularzählplatte hat gegenüber einem am Boden der Kammer eingeritzten Zählnetze folgende wesentliche Vorteile: Die Zählung beschränkt sich nicht nur auf den engeren Raum der Kammer, welche das Zählnetz deckt, sondern erfolgt an beliebigen Stellen der ganzen Zählkammer. Es wird hierdurch der Fehler der Zählung bei ungleichmäßiger Verteilung der Blutkörperchen verringert. Ein weiterer Vorteil ist der, daß sich die Einstellung der Zählplatte unabhängig von der der Zählkammer vollzieht. Sie ist auch deutlicher wegen der Schwärze der Linien, welche eine auf photographischem Wege hergestellte Platte bietet im Gegensatz zu dem in Glas geritzten Netze, das erst bei günstig gewählter Beleuchtung in hinreichender Schärfe sich im Gesichtsfelde abhebt. Dadurch, daß die Zählplatte das Sehfeld überdeckt, lassen sich die Grenzlinien der Felder immer scharf verfolgen, es kann daher nicht eine Verwischung der Teilung stattfinden, wie bei der Glasteilung, falls sich über dieser die roten Blutkörperchen stärker anhäufen. Ein Quadrat in der Mitte der Zählplatte dient zur Zählung der roten Blutkörperchen, es ist zur besseren Übersicht in vier kleine Quadrate geteilt. Dieses innere Zählfeld wird von einem Ringe umschlossen, der zur Zählung der weißen

Blutkörperchen bestimmt und ebenfalls zur besseren Übersicht in vier Teile zerlegt ist. Als Zählkammer dienen die jetzt gebräuchlichen, von THOMA oder BÜRKER, aber ohne Netzteilung. Ihre Höhe beträgt 0·1 mm. Es folgt die nähere Angabe der Auszähltechnik, derentwegen auf das Original verwiesen wird. Für die Zählung der Blutkörperchen ist Objektiv 6 von LEITZ mit der Brennweite 4·0 mm in Verbindung mit Okular II vorgesehen, weil diese Zusammenstellung zu dem vorliegenden Zwecke überwiegend empfohlen wird. Die Zählplatte in der Blendenebene des Okulares wird durch Ausziehen der Augenlinse für jedes Auge scharf eingestellt. Die Messung geschieht bei der normalen Tubuslänge von 170 mm. Kleinere Abweichungen in dem optischen Apparate lassen sich durch eine geringe Verschiebung des Tubusauszuges ausgleichen. Zur Kontrolle sind am Boden der THOMA-Zählkammer je zwei rechtwinklig sich kreuzende Striche eingerissen. Dieselbe Teilung befindet sich in der Kammer nach BÜRKER zweimal, und zwar links und rechts von der Rinne. Die Tubuslänge ist richtig, wenn das von diesen Linien gebildete Quadrat sich mit dem großen Quadrate der Zählplatte deckt. Durch die 9 und zweimal 9 Felder, in welche die THOMA- bzw. BÜRKER-Kammer geteilt ist, ist ein Anhalt dafür gegeben, daß die Zählung an möglichst verschiedenen Teilen der Zählkammer stattfindet. Es ist hierdurch die Gewähr geboten, die durchschnittliche Anzahl der Blutkörperchen im ganzen Felde möglichst fehlerlos zu ermitteln. Dieser neue Blutkörperchenzählapparat wird hergestellt in den optischen Werken von E. LEITZ in Wetzlar. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Schirokauer, K., Neues zur Technik der Blutuntersuchungen [Die Okularzählplatte nach C. METZ] (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, No. 20, p. 936—937 m. 1 Abb.).

Verf. bespricht nach seinen Erfahrungen die von der Firma E. LEITZ in Wetzlar hergestellte, von C. METZ angegebene Zellkammer. Diese stellt eine weitere Vereinfachung der BÜRKER-Kammer dar, ist durchaus zuverlässig und Verf. empfiehlt sie daher, indem er ihre Übersichtlichkeit und Schnelligkeit bei der Zählung hervorhebt. Den Hauptvorzug erblickt er darin, daß bei dieser Kammer im Gegensatze zu andern Systemen das Auge des Untersuchers dadurch, daß die jeweiligen Zählflächen im Okulare durch einen markanten Abschluß in Gestalt von schwarzen Einkränzungen getrennt sind, einen festen Stützpunkt bei der Zählung findet.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Goriaew, N., Meine Netzteilung für die Zählkammer (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 49, p. 2039—2040).

Im Jahre 1910 hat Verf. in russischer Sprache über eine Netzteilung für die Zählkammer berichtet. Diese stellt eine Modifikation des Netzes von PREDTETSCHENSKI dar, dessen Hauptwert in der Deutlichkeit der Zeichnung und in der bequemen Orientierung liegt. Ihre Fläche erweist sich jedoch häufig als unzureichend (1 qmm) und dieser Umstand veranlaßte den Verf., sie zu erweitern. Das Netz des Verf. umfaßt 15 Reihen von je 15 großen Quadraten von $^1/_{25}$ qmm in jeder Reihe. Die Fläche des ganzen Netzes beträgt $15 \cdot 15 \cdot ^1/_{25} = 9$ qmm, sie ist also der Fläche der Netze von TÜRK, BÜRKER, BRENER und anderen gleich. Das ganze Netz stellt ein Quadrat dar, bei dem jede Seite 3 mm beträgt. Zur Zählung der roten Blutkörperchen sind in dem Netze dieselben 25 großen Quadrate, die in kleine von $^1/_{400}$ qmm eingeteilt sind, vorhanden, wie im Netze von PREDTETSCHENSKI. Die eingeteilte Fläche (im ganzen 1 qmm) ist für klinische Zwecke vollkommen ausreichend. Für die Zählung der roten Blutkörperchen gibt das Netz des Verf. dieselben Besonderheiten bzw. Vorzüge, wie das Netz von PREDTETSCHENSKI. Dank dem Umstande, daß die zur Zählung der roten Blutkörperchen bestimmten Flächen voneinander durch Flächen getrennt sind, die nicht in kleine Quadrate eingeteilt sind, ist die Zählung weit leichter, mit weit geringerer Anspannung der Aufmerksamkeit ausführbar, als bei der Verwendung des Netzes von THOMA (also auch der Netze von TÜRK u. a.). Der Vorzug gegenüber dem Netze von BÜRKER besteht darin, daß die kleinen Quadrate von $^1/_{400}$ qmm zu Gruppen von je 16 vereinigt sind, was die Möglichkeit gewährt, auf einmal in 4 und bei einiger Übung in 16 kleinen Quadraten zählen zu können. Die Untersuchung nimmt weit weniger Zeit in Anspruch als bei der Zählung nach einzelnen kleinen Quadraten wie bei BÜRKER. Sodann befinden sich in dem Netze des Verf. 400 kleine Quadrate, in dem Netze von BÜRKER dagegen nur 169, eine Zahl, die nicht selten unzureichend ist. Verf. bemerkt hierzu, daß er es für beschwerlich hält, nach ungeteilten Rechtecken von $^1/_{100}$ qmm bei normaler und selbst bei nicht sehr stark herabgesetzter Anzahl von roten Blutkörperchen bei einer Verdünnung von 1:200 zu zählen. — Die **weißen Blutkörperchen** werden größtenteils auf einmal in einem $^4/_{20}$ mm breiten und 3 mm langen Streifen, d. h. in einer Fläche von $3 \cdot ^4/_{20}$ qmm, also in 15 großen Quadraten gezählt. Sollte bei der erhöhten Anzahl der weißen Blutkörperchen diese Zählung mit Schwierigkeiten verknüpft sein, so läßt sich die bezeichnete Fläche bequem in 5 Teile zerlegen, d. h. man führt die Zählung nach Gruppen zu 3 großen Quadraten aus. Bei Leukämie (bei einer Verdünnung von 1:20) kann auch diese Zählung schwierig sein. Man zählt danach in einzelnen Quadraten (von $^1/_{25}$ qmm) oder sogar nur nach den Quadraten, welche für die Zählung der roten Blutkörperchen bestimmt sind. Ist die Anzahl der weißen Blutkörperchen normal, so zählt Verf. (bei einer Verdünnung von 1:10) entweder im ganzen Netze (9 qmm) oder in

zwei Dritteln desselben (6 qmm), bei bedeutenderen Leukocytosen in einem Drittel des Netzes (3 qmm), bei Leukämie bisweilen nur in 1 qmm, also in derjenigen Fläche, die für die Zählung der roten Blutkörperchen bestimmt ist. — Bei der Prüfung der Tiefe der Kammer fand Verf., daß diese in den verschiedenen Abteilungen gewöhnlich nicht ganz übereinstimmt, mitunter erreicht der Unterschied der Tiefen (einer Hälfte der Bürkerschen Kammer) eine bedeutende Höhe, die Oberflächen der Platten sind eben nicht streng parallel, sondern besitzen eine gewisse Neigung zueinander, Verf. hält es daher für möglich, stets eine und dieselbe Abteilung zu benutzen. Wegen der näheren Ausführung dieser Zählung und der Berechnung der Zahlen wird auf das Original verwiesen. — In der Netzteilung von Türk findet Verf. in bezug auf die Zählung der weißen Blutkörperchen folgende Mängel: 1) allzu zahlreiche Linien im zentralen Kreuze und 2) Fehlen von Beständigkeit im gegenseitigen Verhältnisse der schmalen ($^1/_{200}$ mm breiten) und breiten ($^4/_{20}$ mm breiten) Streifen. Verwendet er die Netzteilung von Bürker, so zählt er die weißen Blutkörperchen nicht nach den einzelnen Quadraten ($^1/_{25}$ qmm), wie dies der Autor empfiehlt, sondern nach dem $^5/_{20}$ mm breiten und 3 mm langen (bei bedeutend gesteigerter Anzahl von weißen Blutkörperchen in 1 mm langen) Streifen. Verwendet man das Bürkersche Netz in dieser Weise, so unterscheidet sich die Zählung wenig von derjenigen nach der Netzteilung des Verf. Vielleicht lassen sich in der Netzteilung des Verf. Zählungsflächen leichter voneinander abgrenzen und weil sie schmaler sind, bei der Verwendung des für die Zählung der Blutkörperchen am meisten geeigneten Objektives No. 5 von Leitz, auch besser überschauen. Verf. füllt nicht immer die beiden Hälften der Kammer mit derselben Mischung: die eine Hälfte kann man mit der Mischung zur Zählung der roten Blutkörperchen füllen, die andere mit einer Mischung zur Zählung der weißen Blutkörperchen. Die Fläche muß daher verhältnismäßig groß sein.

Schiefferdecker (Bonn).

Böttcher, Ein Verfahren zur Verhütung des Bruches beim Deckgläschenreinigen (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 22, p. 1233).

Verf. schlägt folgende Methode vor, die er für sich ausprobiert hat: er nimmt nicht ein Deckgläschen zwischen Daumen und Zeigefinger, sondern gleich vier übereinander. Dadurch wird eine vierfach stärkere und steifere Glaswand gebildet. Dann reinigt er durch streichende Bewegungen des Zeigefingers, der mit einem Tuche bedeckt ist, das mit Alkohol befeuchtet ist, zuerst die vordere Fläche des obersten Deckgläschens, dreht dann die vier Gläschen zusammen um und reinigt in gleicher Weise die Rückseite des vierten Deckgläschens. Dann dreht er das erste Deckgläschen um, legt es wieder auf die übrigen und putzt dessen Rückseite. Nach Fortlegen dieses

obersten, nunmehr auf beiden Seiten gereinigten, wird ein weiteres ungereinigtes unter die drei übrigen gelegt und dann mit dem Reinigen in derselben Weise verfahren. Das Umdrehen des obersten Deckgläschens braucht man nur bei den drei ersten zu machen, beim vierten und den folgenden, deren Unterseite ja immer gleich nach dem Unterschieben gereinigt wurde, erscheint die Oberseite durch das allmähliche Aufrücken nach Fortlegen des vorhergehenden dann von selbst obenauf. Auf diese Weise gelingt es, in kurzer Zeit eine große Menge von Deckgläschen zu reinigen, und zwar unter viel geringeren Vorsichtsmaßregeln als sonst, weil man stärker drücken kann. Man kann natürlich statt vier Deckgläschen auch mehr nehmen. Am angenehmsten ist dies Verfahren natürlich beim Reinigen der größeren und teueren Deckgläschen. Das Putzläppchen, als welches am besten ein altes Taschentuch verwendet wird, soll nur ganz wenig mit Alkohol oder Xylol angefeuchtet werden, damit nicht infolge der Kapillarität bei übermäßiger Feuchtigkeit sich diese zwischen die einzelnen Deckgläschen saugt. *Schiefferdecker (Bonn).*

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Goldschmidt, R., Die Urtiere. Eine Einführung in die Wissenschaft vom Leben (Aus Natur u. Geisteswelt. 160. Bändchen, 2. Aufl., m. 44 Abb. u. 96 pp.). Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1914. geb. 1·25 M.

Auf p. 7 ff. kurzer Hinweis auf die Untersuchungs- und Fangmethoden, auf die Verwertung der Appendicularien (nach Lohmann); Bemerkungen über die Grenzen der Leistungsvermögen unserer Mikroskope und über den Nachweis nicht sichtbarer pathogener Mikroben durch Filtration. *Küster (Bonn).*

Stiasny, G., Studien über die Entwicklung des Balanoglossus clavigerus Delle Chiaje. 1. Die Entwicklung der Tornaria (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**. 1914, p. 36—75 m. 24 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Untersuchungen wurden so weit als möglich am lebenden Objekt angestellt, dann selbstverständlich aber auch die Schnittmethode zu Hilfe genommen. Dies ist schon aus dem Grunde namentlich für die späteren Stadien der Metamorphose — die Anfangsstadien sind vollständig durchsichtig — notwendig, weil diese undurchsichtig werden. Auch läßt sich speziell bei Balanoglossus am lebenden Objekt nicht

alles beobachten, da man die Embryonen nur selten rein isoliert findet, sondern meist eingebettet in mehr oder weniger Schleim, der selbst durch sorgfältigstes Pipettieren sich nicht beseitigen läßt. Infolgedessen lassen sich die Embryonen unter dem Deckgläschen nur sehr schwer rollen. Es ist daher sehr viel Material notwendig, um sich über ein einzelnes Entwicklungsstadium genügend orientieren zu können. Dies gilt natürlich in erster Linie für die Embryonalentwicklung, während welcher der Embryo in der Eimembran eingeschlossen ist. Leichter ist die Untersuchung der ausgeschlüpften Larve und der Tornaria, die am besten in Quittenschleim erfolgt, durch dessen Zusatz unter das Deckgläschen das Bewegungsvermögen der Embryonen gehemmt wird, ohne sie selbst zu schädigen. Diese Stadien wurden nach der von Cerfontaine für Amphioxus angegebenen Methode eingebettet und geschnitten. Die Fixierung erfolgte mit Sublimat, Sublimat-Eisessig mit einer Spur Formol, Kleinenbergs Pikrinschwefelsäure und Flemmingscher Flüssigkeit, die Färbung in der üblichen einfachen Weise. *E. Schoebel (Neapel).*

Bierens de Haan, J. A., Über homogene und heterogene Keimverschmelzungen bei Echiniden (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **36**, 1913, p. 473—536 m. 35 Figg.).

Bierens de Haan, J. A., Über die Entwicklung heterogener Verschmelzungen bei Echiniden (ebenda Bd. **37**, 1913, p. 420—432 m. 5 Figg.).

Den Keimverschmelzungen ist die gleich nach dem Eintritt des Spermatozooms in das Ei gebildete zähe Befruchtungsmembran ein unangenehmes mechanisches Hindernis. Auf zweierlei Weise kann man dasselbe beseitigen: man kann entweder die Membran durch Schütteln entfernen, oder abwarten, bis die Larve selbst ihre Hülle zerreißt, was bekanntlich auf frühem Blastulastadium geschieht. Beide Methoden haben ihre Nachteile. Bei der ersten gelingt es nicht immer alle Eier von ihrer Membran zu befreien und bei stärkerem Schütteln werden oft die Eier selbst verletzt. Bequemer ist es also, die Larven diese Arbeit selbst machen zu lassen. Hierbei hat man aber den Nachteil, mit schon weiter entwickelten Organismen arbeiten zu müssen, bei denen man nicht mehr die gleiche Plastizität erwarten darf, wie beim sich furchenden Ei.

Meistens hat Verf. das von Driesch angegebene Verfahren bei seinen Verschmelzungsexperimenten befolgt. Gleich nach der Befruchtung wurden die Eier in kleine Glasröhrchen gebracht und darin ungefähr 30mal stark geschüttelt. Nachdem sich dann die Eier auf den Boden gesenkt hatten, wurde das gewöhnliche Seewasser abgesogen und durch kalkfreies, das nach dem Rezept von Herbst hergestellt war (3 Prozent $NaCl$; 0·08 Prozent KCl; 0·66 Prozent $MgSO_4$ und eine Spur $MgHPO_4$ in destilliertem Wasser) und das

durch Zusatz von 10 Tropfen einer 0·5prozentigen Lösung von Natronlauge auf 25 cc schwach alkalisch gemacht war, ersetzt. Hierin blieben die Eier 15 bis 60 Minuten, dann wurden sie in eine Kulturschale mit gewöhnlichem Seewasser zurückgebracht. Ein bestimmtes Optimum für eine bestimmte Art zu finden gelang nicht. Überhaupt zeigte sich, wie auch schon Driesch in Erfahrung gebracht hatte, daß man wenig zum Gelingen der Verschmelzungen beitragen kann, die Prozentzahl der Zwillinge bleibt immer gering.

Um freischwimmende Blastulae zu vereinigen, zentrifugierte Verf. dieselben einige Minuten, sog dann das Wasser ab und brachte dann das künstliche kalkfreie Seewasser hinzu. Um sie wieder in gewöhnliches Seewasser zurückzubringen wurden sie wieder zentrifugiert, wodurch sie nochmals stark zusammengedrückt wurden.

Heterogene Verschmelzungen wurden schließlich nach einigen negativen Versuchen von Parechinus microtuberculatus und Paracentrotus lividus dadurch erhalten, daß die Eier bis zum Blastulastadium unter konstantem Druck, und zwar durch Zentrifugieren zusammengepreßt wurden. Das spezielle Verfahren war folgendes: Die Eier wurden nach Abschütteln der Membranen gemischt und in alkalischem, kalkfreiem Seewasser 20 Minuten lang zentrifugiert, und zwar stellte es sich heraus, daß eine Umdrehungszahl von 250 bis 300 pro Minute geeigneter war als eine größere. Dann wurden die Keime in gewöhnliches Seewasser zurückgebracht und hierin etwa 7 Stunden weiter zentrifugiert und schließlich in Boveri-Schälchen übergeführt. Längeres Zentrifugieren, wie es anfangs gehalten wurde, hielt Verf. schließlich für überflüssig.

Die Zeichnungen wurden sämtlich während des Lebens oder gleich nach dem Tode mit dem Zeichenapparat angefertigt. Zur Betäubung lebhaft umherschwimmender Blastulae oder Plutei wurde mit gutem Erfolge Cyankalium benutzt. Einige Tropfen einer 1prozentigen Lösung genügen, um die Tiere im Glasschälchen bald zur Ruhe zu bringen, und wenn sie nach nicht allzulanger Zeit wieder in frisches Wasser zurückgebracht werden, erholen sie sich in wenigen Stunden vollständig.

E. Schoebel (Neapel).

Vanhöffen, E., Über Konservierung von Hydra (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde z. Berlin 1913, p. 80).

Um in kürzester Zeit hauptsächlich für Sammlungszwecke gut brauchbare Präparate von Hydren (und wahrscheinlich auch von anderen, ähnlich empfindlichen Tieren) herzustellen, verfährt Verf. in folgender Weise: Er löst die Polypen von ihrer Unterlage ab, hebt mehrere in einem Glasrohr mit wenig Wasser heraus, läßt die Tiere sich ausstrecken, während welcher Zeit er durch behutsames Drehen des Rohres das Festsetzen der Tiere verhütet, befördert dann durch Lüften des das Glasrohr verschließenden Fingers das Wasser mit

den Hydren in konzentriertes, leicht in Bewegung gehaltenes Formol und überführt schließlich die Objekte in 2prozentiges Formol.

E. Schoebel (Neapel).

Eckardt, E., Beiträge zur Kenntnis der einheimischen Vitrinen (Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. **51**, 1914, p. 213—376 m. 82 Figg. u. 1 Tfl.).

Die für die Untersuchung notwendigen Präparationen wurden mit sehr feinen Nadeln unter dem Zeissschen binokularen Mikroskop ausgeführt, und zwar teils im frischen, teils im abgetöteten Zustande. Zur Abtötung erwies sich 1/2prozentige Kokaïnlösung in frischem Leitungswasser am günstigsten. Der Tod trat unter nur relativ geringer Schleimabsonderung nach etwa 2 Stunden ein. Wärmestarre in abgekochtem Wasser — ein Verweilen von einer Viertelstunde im Thermostaten genügte — gab ebenfalls befriedigende Resultate, jedoch nur für Material, das nicht fixiert werden sollte. Chloralhydrat und Hydroxylamin zeigten sich weniger brauchbar. Ferner wurden alle Gewebe lebensfrisch als Quetsch- und Zupfpräparate unter starken Vergrößerungen untersucht. Weiter wurden Ausstriche gemacht, speziell von der Leber und Zwitterdrüse, und diese fixiert und gefärbt. Zur Fixierung diente zuerst das Deegenersche Gemisch aus 20 Teilen gesättigter wässeriger Sublimatlösung, 10 Teilen 0·5prozentiger Chromsäure, 1 Teil 1prozentiger Osmiumsäure und 1·5 Teilen Essigsäure. Die Dauer der Fixierung ist genau auszuprobieren, je nach der Größe der Objekte, da bei zu langer Einwirkung die epidermalen Gewebe ziemlich stark mazeriert werden. 2 Stunden genügen für Tiere von ungefähr 1 cm Größe. Die durchschnittlich besten Resultate gab aber Sublimat-Alkohol-Essigsäure, warm oder kalt angewendet. Ein Zusatz von Osmiumsäure erwies sich als recht günstig. Gefärbt wurde vor allem mit den Hämatoxylinen von Delafield, Ehrlich, Heidenhain, Rosenbusch und Weigert. Die besten Bilder ergab im allgemeinen das Heidenhainsche Eisenhämatoxylin. Schließlich wurden auch Totalpräparate, teils gefärbt, teils ungefärbt, die nach einfacher Aufhellung in Xylol oder besser in einer Mischung von Isosafrol und Wintergrünöl hergestellt waren, zu den Untersuchungen benutzt.

E. Schoebel (Neapel).

Fernau, W., Die Niere von Anodonta cellensis Schröt. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 253—358 m. 44 Figg.).

Zur Untersuchung der morphologischen Verhältnisse wurden Tiere von 4 bis 16 cm Länge entweder frisch präpariert oder mitsamt der Schale erst in 60prozentigem Alkohol oder in 10prozentigem Formol konserviert.

Injiziert wurde teils mit Paraffin, teils mit der Schuberg schen Masse, worauf die gefüllten Gefäße durch Mazeration der Präparate in Kalilauge freigelegt wurden.

Zum Studium der Histologie wurden die Tiere in ganz frischem Zustande in Ringers Flüssigkeit präpariert und die zu untersuchenden Partien des Organs in kleinen Stückchen in warmem Zenkerschen Gemisch 4 bis 8 Stunden oder in starker und schwacher Flemmingscher Lösung 10 bis 22 Stunden fixiert. Die Einbettung erfolgte durch Chloroform oder Zedernholzöl in Paraffin. Die 2 bis 5 μ dicken Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin nach van Gieson oder mit Eisenhämatoxylin und Safranin gefärbt. *E. Schoebel (Neapel).*

Brück, A., Die Muskulatur von Anodonta cellensis Schröt. Ein Beitrag zur Anatomie und Histologie der Muskelfasern (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 481—619 m. 81 Figg.).

Für die makroskopische Untersuchung über den Verlauf der Muskelzüge wurden möglichst große Exemplare benutzt. Als muskelhärtendes Konservierungsmittel, das aber das Bindegewebe zur Quellung bringt oder wenigstens durch eine leichte Nachbehandlung zur Quellung bringen läßt, eignet sich eine 5prozentige Formaldehydlösung am besten bei einer Einwirkung von 24 bis 48 Stunden. Um zu vermeiden, daß die Tiere sich bei der Konservierung zu stark kontrahieren, tut man gut, sie zuerst zu betäuben. Die mit Gewalt geöffneten Schalen werden durch eingeklemmte Korkstücke offen gehalten. Dann bringt man die sonst unverletzten Tiere in eine 1prozentige Lösung von Kokaïn oder in eine $^3/_4$prozentige Lösung von Hydroxylamin + Chloralhydrat. Ist die Betäubung (nach 6 bis 24 Stunden) eingetreten, so erfolgt bei der Behandlung mit Formol keine Kontraktion mehr. Die Präparation der Muskeln geschieht zweckmäßig unter Wasser. Letzteres bewirkt nämlich schon nach einigen Minuten eine Quellung des Bindegewebes, während die Muskelfasern hart bleiben.

Die durch die makroskopische Präparation erhaltenen Resultate müssen natürlich durch Schnittserien kontrolliert werden. Dazu wurden möglichst kleine vorher betäubte Exemplare in toto fixiert. Hierzu bewährten sich die Zenkersche Flüssigkeit und das Sublimat-Eisessig-Gemisch recht gut. Beide Reagentien wurden sowohl kalt, als auch warm angewandt. Durch Zusatz von Eisessig wurde dann die Schale etwas erweicht, so daß der Weichkörper der Muschel ohne Schwierigkeit losgelöst werden konnte. Bei Fixierung der Tiere in toto kommen allerdings Zerreißungen des Bindegewebes vor, doch sind die Muskelzüge immer in ihrer richtigen Lage zueinander erhalten.

Die Einbettung geschah meist in Paraffin.

Zur Färbung der Schnitte eigneten sich für den Verlauf der Muskelbündel recht gut Hämatoxylin-Eosin und Hämalaun-Eosin.

Ganz vorzügliche Resultate wurden aber auch mit dem MALLORYschen Verfahren erzielt. Dieses kam mit einer kleinen Modifikation in folgender Weise zur Ausführung: Färben 3 bis 4 Minuten in 0·2prozentigem Säurefuchsin, nach kurzem Abspülen in destilliertem Wasser Behandeln mit 1prozentiger Phosphormolybdänsäure, nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser Färben in einer gekochten und abgekühlten Lösung von 0·5 g Anilinblau, 2 g Orange G, 2 g Oxalsäure, 100 cc destilliertem Wasser, dann nach Auswaschen in destilliertem Wasser folgt rasches Überführen durch 90prozentigen und absoluten Alkohol in Xylol und Einschluß in Kanadabalsam. In einigen Fällen wurde auch die Doppelfärbung Boraxkarmin-Pikroindigkarmin angewandt. Die Färbung der Präparate für histologische Untersuchungen erfolgte meist mit Eisenhämatoxylin-Säurefuchsin.

Zum Studium der Entstehung der Muskelfibrillen wurde schließlich noch dreimal 24 Stunden mit FLEMMINGS starkem Gemisch in der Modifikation nach MEVES fixiertes Material in folgender Weise behandelt: Nach 1stündigem Wässern 24stündige Behandlung mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Holzessig und 1prozentiger Chromsäure und dann nach erneutem Wässern Einbetten in Paraffin durch Xylol in der üblichen Weise. Die Schnitte kamen dann zunächst 24 Stunden in eine 4prozentige Lösung von Eisenalaun, dann nach Abspülen in Wasser die gleiche Zeit in eine Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (1 cc gesättigte Lösung auf 200 bis 250 cc destilliertes Wasser). Hierauf wurden die abgespülten Schnittserien in einer Mischung einer 3prozentigen alkoholischen Lösung von Kristallviolett mit gleichviel Anilinwasser erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen, und dann nach 1 bis 2 Minuten langer Differenzierung in 30prozentiger Essigsäure und 5 bis 10 Minuten langem Waschen in Leitungswasser mit Fließpapier abgetrocknet, rasch mit absolutem Alkohol behandelt, 10 Minuten in Bergamottöl aufgehellt und durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen.

Zum Zweck des Studiums der Innervierung der Muskeln wurden die GOLGIschen Methoden in zwei verschiedenen Arten angewandt: Kleine Stücke kamen in ein frischbereitetes Gemisch von 54 cc einer 3·5prozentigen Kaliumbichromatlösung und 6 cc 2prozentiger Osmiumsäure, worin sie im Dunkeln bei einer Temperatur von 25° C 3 bis 15 Tage verblieben. Dann wurden sie rasch in destilliertem Wasser abgespült, und mit Fließpapier abgetrocknet und für 2 bis 6 Tage in eine 0·75prozentige Silbernitratlösung eingelegt. Bei der zweiten Art erfolgte die Fixierung der Stücke in einem Gemisch aus 4 Teilen einer 3·5prozentigen Kaliumbichromatlösung und 1 Teil käuflichem Formol. *E. Schoebel (Neapel).*

Förster, J., Über die Leuchtorgane und das Nervensystem von Pholas dactylus (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 349—392 m. 15 Figg. u. 1 Tfl.).

Zur Untersuchung dienten ausgewachsene Tiere, die auf die verschiedenste Weise fixiert waren. Am vorteilhaftesten für die histologischen Studien der Leuchtorgane erwies sich Fixierung mit Sublimat-Alkohol-Eisessig (1 Teil konzentrierte Sublimatlösung in destilliertem Wasser, 1 Teil 96prozentiger Alkohol, 0·2 Teile Eisessig, dazu einige Tropfen Formol), die kalt angewendet wurde. In dieser Flüssigkeit blieben die Tiere etwa 10 bis 12 Stunden, wurden nachher in 70prozentigen Alkohol gebracht und mit Jodtinktur behandelt. Annähernd gleichgute Resultate lieferten Objekte, die mit einem Formol-Alkohol-Eisessig-Gemisch fixiert waren, das folgende Zusammensetzung hat: 15 Teile 96prozentiger Alkohol, 30 Teile destilliertes Wasser, 6 Teile käufliches Formol und 7 Teile Eisessig. Bei einer Einwirkungsdauer dieser Lösung von 1 bis 2 Tagen treten Kerne und Nervenfibrillen besonders deutlich hervor. Nicht zu empfehlen ist die Flemmingsche Lösung. Zwar erhält sie Epithel und Drüsenzellen vorzüglich, macht aber die Muskulatur, die sehr reichlich unter den Leuchtorganen liegt, unangenehm hart und spröde, so daß man nur selten brauchbare Schnitte erhält. Ebenso ungünstig ist Fixierung mit einem hochprozentigen Alkohol, denn einerseits löst sich das Leuchtsekret in Alkohol, anderseits wird der Inhalt der unter dem Epithel der Leuchtorgane liegenden Mucindrüsen derart verändert, daß er beim Schneiden splittert und die Zellverbände zerreißt.

Für die Einbettung wurden die Objekte direkt aus 70prozentigem Alkohol in absoluten gebracht, in dem sie bei mehrmaligem Wechsel 1 bis 3 Stunden verblieben. Dem letzten Alkohol wurde dann allmählich Zedernholzöl zugesetzt, bis das Verhältnis beider 1 : 1 betrug. Nach 6 bis 8 Stunden kamen die Präparate in angewärmtes reines Zedernholzöl und blieben auf einem 50° C warmen Thermostaten 4 bis 5 Stunden darin. Darauf brachte Verf. das Material in ein Schälchen, in dem Paraffin (Schmelzpunkt 40°) in Zedernholzöl im Verhältnis 1 : 1 gelöst war, worin es 3 bis 4 Stunden verblieb, um alsdann in ein zweites Schälchen übergeführt zu werden mit einer Lösung von Paraffin (Schmelzpunkt 58°) in Zedernholzöl im Verhältnis 2 : 1. Nach 5 bis 6 Stunden erfolgte schließlich Einbringen in reines, geschmolzenes Paraffin (Schmelzpunkt 60°) für 2 bis 3 Stunden.

Zur Färbung der Schnittserien, die als Übersichtsbilder dienen sollten, fanden meist Hämalaun und Delafields Hämatoxylin Anwendung. Da es sich in der Hauptsache um Drüsen oder drüsenähnliche Gebilde handelte, dienten die spezifischen Schleimfarbstoffe Thionin und Mucikarmin zur Identifizierung und zum Nachweis der Mucindrüsen. Oft erwies sich noch ein Nachfärben des Plasmas und der Granula des Leuchtsekretes mit Fuchsin oder Bordeauxrot, welche beiden Farbstoffe dem Eosin auf jeden Fall vorzuziehen sind, als sehr günstig. Bei dem nicht immer einfachen Nachweis der Kerne in den Mucin- und Leuchtdrüsen, sowie der Nervenzellen und

ihrer Kerne lieferte Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gute und sichere Resultate. *E. Schoebel (Neapel).*

Meves, F., Die Plastochondrien in dem sich teilenden Ei von Ascaris megalocephala (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 84, Abt. 2, 1914, p. 89—110 m. 2 Tfln.).

Da bei den Ascariseiern die Schale, welche besonders vom Ende der zweiten Reifungsteilung an außerordentlich resistent geworden ist, ein Hindernis bildet, welches dem Eindringen der Fixierungsflüssigkeit die größten Schwierigkeiten bereitet, wurde das von ARTOM empfohlene Verfahren angewendet, welches gestattet auch die dick beschalten Eier von Ascaris mit dem ALTMANNschen Gemisch momentan zu fixieren. Es besteht darin, die im Uterus enthaltenen lebenden Eier, nachdem sie das gewünschte Stadium erreicht haben, mit einem Kohlensäure-Gefriermikrotom zu schneiden und sie dann in die Fixierungsflüssigkeit zu bringen (vgl. diese Zeitschr. Bd. 25, 1908, p. 3 ff.). Durch die Kälte werden die beschalten Eier in keiner Weise geschädigt. Für die Untersuchung kommen nur solche Eier in Betracht, worauf auch schon ARTOM hingewiesen hat, bei denen die Schale ohne jede Deformation des Inhaltes durchschnitten oder auch nur angeschnitten ist. Bei den Größenverhältnissen der in Frage stehenden Eier hat also Verf. die Gefriermikrotomschnitte meistens 60 μ dick, teilweise aber auch noch dicker hergestellt. Das geschnittene Material wurde in gefrorenem Zustande in das ALTMANNsche Gemisch übertragen, 24 Stunden darin belassen und dann in der früher angegebenen Weise (vgl. diese Zeitschr. Bd. 28, 1912, p. 485) weiterbehandelt und in Paraffin eingebettet. Die 4 μ dicken Paraffinschnitte wurden nach RUBASCHKIN zuerst in eine 1/4prozentige Lösung von Kalium hypermanganicum und hinterher in ein Gemisch aus gleichen Teilen einer 1prozentigen Lösung von Oxalsäure und einer 1prozentigen Lösung von Kalium sulfurosum gebracht, wobei die Dauer des Aufenthaltes in jeder der beiden Flüssigkeiten auf etwa 4 Minuten bemessen wurde. Dann wurde nach der auch früher vom Verf. angewandten ALTMANNschen Vorschrift mit Säurefuchsin-Pikrinsäure gefärbt (l. c.). *E. Schoebel (Neapel).*

Ballowitz, E., Über eigenartige, spiralig strukturierte Spermien mit apyrenem und eupyrenem Kopf bei Insekten (Arch. f. Zellforsch. Bd. 12, 1914, p. 147—157 m. 1 Tfl.).

Verf. zergliederte frisch gefangene Männchen und Weibchen von Panorpa und zerzupfte Hoden und Receptaculum seminis in physiologischer Kochsalzlösung. Das dabei gewonnene Sperma wurde dann meist mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. Weiter wurde ein Teil des Materials mit Gentianaviolett oder Rosanilin gefärbt und darauf feucht.

meist nach Zusatz einer konzentrierten Lösung von Kalium aceticum, untersucht. Der andere Teil wurde zu Deckglastrockenpräparaten verarbeitet und nach Färbung mit Gentianaviolett oder Alaunkarmin in Kanadabalsam eingeschlossen.

E. Schoebel (Neapel).

Koch, A., Anatomische Untersuchungen an Psychoda albipennis (Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. **51**, 1914, p. 163—212 m. 27 Figg.).

Da die kleinen, durchschnittlich nur 2 mm langen Insekten für die beabsichtigte Untersuchung in toto fixiert werden mußten, ergaben sich wegen der Undurchlässigkeit des Chitins große Schwierigkeiten. Brauchbare Ergebnisse lieferte schließlich nur das stets frisch bereitete Henningsche Gemisch aus 8 Teilen Salpetersäure, 8 Teilen $^1/_2$prozentiger Chromsäure, 12 Teilen gesättigter Lösung von Sublimat in 60prozentigem Alkohol, 6 Teilen gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure und 21 Teilen absolutem Alkohol, das gleichzeitig das Chitin erweicht und die Weichteile fixiert. Vor dem Einbringen der Objekte in die Fixierungsflüssigkeit ist es ratsam, sie einige Sekunden in 96prozentigen Alkohol zu tauchen, um aus dem dichten Pelz von unbenetzbaren Haaren, der Körper und Flügel der Psychoden bedeckt, Fett und Luft zu entfernen. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin nach Böhmer-Hansen unter Nachbehandlung mit wässerigem Eosin oder alkoholischem Orange G gefärbt.

Da für die notwendigen Rekonstruktionen sowohl die gewöhnlich angewandte Methode des Ausmessens, als auch das Verfahren mit Richtungsebenen am Block versagten, sah sich Verf. zu folgendem Verfahren genötigt: Nachdem die Schnitte der zur Rekonstruktion vorliegenden Serie unter genauer Beibehaltung derselben Vergrößerung mit Hilfe des Zeichenapparates auf einzelne Blätter gezeichnet worden waren, wurde eine der Zeichnungen mit zwei sich schneidenden Richtungslinien versehen, deren Lage beliebig, aber für den gegebenen Fall passend sein muß. Auf diese Zeichnung wurde dann die durch Baden in Xylol durchsichtig gemachte Abbildung des folgenden Schnittes der Serie so gelegt, daß unter Berücksichtigung möglichst vieler Organe die beste Deckung erfolgte, worauf das Richtungslinienpaar der ersten Zeichnung auf die zweite übertragen wurde. Nachdem durch fortgesetzte Wiederholung dieses Verfahrens alle Zeichnungen mit den nötigen Richtungslinien versehen waren, konnte die Rekonstruktion in der üblichen Weise vorgenommen werden.

Die für gewisse Zwecke erforderlichen Totalpräparate wurden durch einfaches Aufhellen der Objekte in Nelkenöl oder Kreosot hergestellt, eventuell nachdem sie vorher 12 bis 18 Stunden in Hämalaun durchgefärbt und in Alkohol differenziert worden waren.

E. Schoebel (Neapel).

Dietrich, W., Die Metamorphose der freilebenden Süßwasser-Copepoden. 1. Die Nauplien und das erste Copepodidstadium (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **113**, 1915, p. 252—324 m. 19 Figg.).

Die Untersuchung der Tiere erfolgte sowohl an lebendem wie auch an totem Material und zum Teil an den abgeworfenen Chitinhäuten. Letztere sind aber nur bei Podopleen verwendbar; bei Gymnopleen sind sie zu fein, als daß sie unversehrt erhalten blieben. Die besten Resultate gab immer die Untersuchung des lebenden Materials. Cyclopiden- und Harpacticidennauplien wurden ohne besondere Behandlung unter das Mikroskop gebracht. Mit einer sehr fein und sehr lang ausgezogenen Pipette wird der Nauplius aus dem Zuchtglas mit sehr wenig Wasser auf einen gewöhnlichen, also nicht hohlgeschliffenen Objektträger gebracht und mit einem durch elastische Füßchen (Verf. nimmt hierzu an Stelle des gebräuchlichen Wachses Plastilina) gestützten Deckglase bedeckt. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Tropfen nur die Mitte des Deckglases netzt. Um dann die raschen Bewegungen des Nauplius zu hemmen, drückt man, immer mit dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung beobachtend, die Deckglasfüßchen gleichmäßig, und zwar am besten mit dem Finger nieder, bis das Deckglas den Nauplius eben, meist an der Mundklappe, berührt. Der Nauplius gibt dann meist bald seine Bewegungen auf; geschieht dies aber noch nicht, so genügt dann fast stets vollständige Festlegung des Tieres durch vorsichtiges Absaugen von ein wenig Flüssigkeit mit Fließpapier. Liegt der Nauplius noch nicht günstig — die Rückenlage ist im allgemeinen die geeigneteste —, so muß man ihn vorsichtig durch Verschieben des Deckglases rollen. Dies gelingt sehr gut bei Cyclopiden mit ihrem fast kreisförmigen Querschnitt. Bei den dorsoventral stark abgeplatteten Harpacticiden gelingt das Wenden schwieriger, meist aber doch durch Lüften des Deckglases. Bei den Centropagiden ist diese Methode wegen der starken seitlichen Kompression nicht anwendbar; hier führt nur Verdickung des Mediums durch Quittenschleim oder Betäubung der Tiere zum Ziele. Kokaïn ist zum letzteren Zwecke wenig geeignet, da die Tiere, sobald man nicht äußerst verdünnte und deshalb nur sehr langsam wirkende Lösungen verwendet, leicht platzen. Recht gute Resultate sind dagegen mit Chloralhydrat in einer Lösung von 1 : 10000 zu erhalten. Ein Quellen und Zersprengen des Chitinpanzers tritt hierbei überhaupt nicht ein und ein Opakwerden und Absterben nur bei zu starker Konzentration der Lösung. Nach erfolgter Betäubung wurde das Wasser ersetzt. Die Präparate wurden über Nacht in einer feuchten Kammer kühl aufbewahrt, eventuell unter Zusetzen eines Tropfen Wassers, so daß es gelang, dasselbe Tier unter dem Deckglas 3 bis 4 Tage zu beobachten. Ein Übelstand ist bei solchen Präparaten, daß das Wasser unter dem Deckglase doch langsam verdunstet, infolgedessen der Deck-

glasdruck steigt und das Tier gequetscht wird. Eine zur Vermeidung desselben notwendige Fertigkeit, die darin besteht, im richtigen Augenblicke die richtige Menge Wasser an die richtige Stelle am Rande des Deckglases zu bringen, so daß sie nicht mit dem inneren Tropfen zusammenfließt, bringt die Übung bald mit sich. Für kürzere Beobachtungsdauer genügt oft auch die Umrandung des Deckglases mit Vaselin.

Die für die Untersuchung dienenden Tiere wurden ex ovo gezüchtet. Nauplien, aus der Freiheit in Gläser gebracht, starben rasch ab, nur im Winter bei etwa 0° konnten sie länger erhalten werden. Zur Zucht des Diaptomus und Cyclops wurden kleine runde Gläser von etwa 4 cm Durchmesser und 8 cm Höhe mit etwa 75 cc Wasser gefüllt, verwandt, für Canthocamptus bedeutend kleinere mit etwa 20 bis 25 cc Inhalt.

Nach längeren vergeblichen Zuchtversuchen hatte Verf. schließlich doch bei einigen Formen Erfolg, so bei Diaptomus vulgaris und D. wierzejskii, Cyclops strenuus und C. viridis und Canthocamptus staphilinus.

Die Kulturen setzte Verf. auf zweierlei Weise an: einmal brachte er eisacktragende Weibchen in das Glas, ließ sie ablegen und fing sie danach heraus, zum anderen präparierte er die Eiballen unter dem Mikroskope oder nach erlangter Übung mit unbewaffnetem Auge mit Schweinsborsten und angeschliffenen Insektennadeln ab und legte sie — oft bis zu einem Dutzend — in die Zuchtgläser.

Mit dieser Methode wurde recht guter Erfolg erzielt, denn mindestens 90 Prozent der abpräparierten Eiballen entwickelten sich weiter. Als Futter wurde die auf Agar-Agar rein gezüchtete, einzellige Alge Chlorella gegeben. Von besonderem Einfluß auf das Gedeihen der Kulturen war das verwendete Wasser; Leitungswasser ließ die Tiere eingehen; als geeignet erwies sich altes klares Aquariumwasser, das durch chemische Filter oder Müllergaze No. 25 filtriert worden war. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Schmidt, W., Die Muskulatur von Astacus fluviatilis (Potamobius astacus L.). Ein Beitrag zur Morphologie der Decapoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **113**, 1915, p. 165—251 m. 26 Figg.).

Zum Zwecke der Präparation der Muskeln erwies sich Fixierung der zu verwendenden Tiere als unerläßlich. Zenkersche Flüssigkeit mit Zusatz von etwas Eisessig gab hierbei recht gute Resultate. Um das Eindringen der Flüssigkeit zu erleichtern oder überhaupt zu ermöglichen, müssen die Krebse an mehreren Stellen, die bei der jeweiligen Präparation nicht in Frage kommen, aufgeschnitten werden. Will man ein Tier möglichst vollständig ausnutzen, so schneidet man vom hinteren Rande des Carapax zwischen den Branchiocardialfurchen, jedoch nicht zu nahe an diesen, bis zur Nackenfurche einen schmalen

Skelettstreifen heraus. Aus diesem Spalt kann man dann mit einer feinen Pinzette das Herz, die Geschlechtsorgane und die Leber sehr leicht herausnehmen, ohne bei einiger Vorsicht irgendwelche Muskeln zu verletzen. Um schließlich noch die Abdominalmuskulatur der Fixierungsflüssigkeit zugänglich zu machen, führt man entweder einen genau medianen Schnitt ventral von dem zweiten bis fünften Abdominalsegment aus, oder man schneidet vorsichtig mit einer spitzen Schere rings um den After einen Kreis in den Chitinpanzer. Man kann dann den Darm, der meist schon infolge der ersten Operation vom Magen losgerissen ist, am After mit einer Pinzette fassen und vollkommen herausziehen. Bei dieser Methode bleiben die einzelnen Segmente unverletzt, während die Flüssigkeit durch den entstandenen Kanal gut eindringen kann. Je nachdem man ein ganzes Tier oder nur einzelne Teile fixieren will, läßt man das Objekt 6 bis 14 Stunden in der Fixierungsflüssigkeit, wässert es darauf ebenso lange in fließendem Wasser und führt es allmählich in etwa 70prozentigen Alkohol über. Stärkerer Alkohol ist vor der Präparation zu vermeiden, da durch ihn die Muskeln zu hart und brüchig werden. Aus dem gleichen Grunde ist Behandlung mit Formol nicht gut brauchbar. In 70prozentigem Alkohol läßt sich bei Festlegung der Objekte in Wachsschalen oder in Paraffin die Präparation bequem ausführen, makroskopisch oder besser mit Hilfe einer binokulären Lupe. Mikroskopische Präparate sind nur in Ausnahmefällen nötig.

E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).

B. Wirbeltiere.

Unna, P. G., u. Gans, O., Zur Chemie der Zelle. IV. Die Nissl-Körper (Berliner klin. Wochenschr. 1914, No. 10).

Nach den Verff. bestehen die Nissl-Körper nur aus Cytose. Zum Nachweise dient die folgende Technik: Dem frisch geschlachteten Tiere (Rind) werden Teile des Kleinhirnes und des Rückenmarkes entnommen und einerseits sofort mittels der Gefriermethode untersucht (A), anderseits in Zelloïdin eingebettet (B). A. Scheiben von etwa 5 mm Höhe und 10 mm Durchmesser werden mittels Kohlensäure vereist und in nicht zu dünne Schnitte (30 bis 40 μ) zerlegt. Sie werden teils direkt gefärbt (C), teils erst zur Extraktion der Nissl-Körper auf 12 Stunden in destilliertes Wasser von 65° gebracht und dann gefärbt (C). Es empfiehlt sich, die Schnitte vor der Färbung mit Alkohol und Äther zu entfetten und sie durch absoluten Alkohol wieder in Wasser zu bringen. — B. Größere Stücke kommen in ein Standglas, das mehr als zur Hälfte mit reiner Watte gefüllt ist, oben auf die Watte. Dann wird absoluter Alkohol bis zur Höhe der Stücke

aufgegossen. Da die unten liegende Watte das Wasser der Stücke aufsaugt, geht die Härtung rasch von statten. Nach 24 Stunden nimmt man die etwas gehärteten Stücke heraus, zerschneidet sie in passende Scheiben und legt sie für weitere 2 bis 3 Tage auf Watte mit frischem absolutem Alkohol. Dann Zelloïdineinbettung wie gewöhnlich. Auch die Zelloïdinschnitte müssen, um der Extraktion zu widerstehen, nicht zu dünn sein, etwa 15 μ. Sie werden ebenfalls teils direkt gefärbt (C), teils vor der Färbung mit destilliertem Wasser 12 Stunden bei 65° behandelt und dadurch von der Cytose befreit. — C. Methylgrünhaltige Lösungen und Farbmischungen müssen, um die Verunreinigung mit Methylviolett zu vermeiden, für mikrochemische Untersuchungen in alkalifreien Gläsern aufbewahrt und vor der Färbung selbst frisch gereinigt werden. Man präpariert die Gläser am besten durch Auswischen mit konzentrierter Schwefelsäure und nachfolgender Reinigung und Paraffinausgießung. Die Farblösung hält man bei längerem Gebrauche in einem Reagierröhrchen und schichtet 1 bis 2 cc Chloroform unter. Kurz vor jedem Gebrauche schüttelt man das Gläschen tüchtig durch. Die Lösung ist brauchbar, sobald das Chloroform sich abgesetzt und das verunreinigende Methylviolett mitgenommen hat (Methode von Paul Mayer). a. Isolierte Nukleïnfärbung. Die Schnitte kommen 10 Minuten und länger in die folgende Mischung: Methylgrün 1 g, Trichloressigsäure 0·1 g, destilliertes Wasser 100 g, werden in angesäuertem Wasser abgespült und durch Alkohol und Terpentinöl in Balsam gebracht. b. Gleichzeitige Färbung von Nukleïn und Cytose. Die Schnitte kommen 20 Minuten in die folgende Farbmischung: in 67 g 0·5prozentigen Karbolwassers werden 0·15 g Methylgrün aufgelöst und auf die oben angegebene Weise durch Chloroform gereinigt, dann werden 0·25 g Pyronin, 2·5 g absoluten Alkohols und 20·5 g Glyzerin hinzugefügt. Sie kommen dann durch Wasser für 1 Sekunde in Alkohol mit 1promilliger Trichloressigsäure zur Entfärbung und 30 Sekunden in absoluten Alkohol zur Entwässerung, weiter durch Terpentinöl plus Xylol in Balsam. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Ballowitz, E., Die chromatischen Organe, Melaniridosomen in der Haut der Barsche [Perca und Acerina]. Dritter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren-Vereinigungen bei Knochenfischen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 1—35 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Untersuchung von Totalpräparaten wurde in der Weise vorgenommen, daß dem frisch getöteten Tier kleine, dünne Hautstücke entnommen und in physiologischer Kochsalzlösung flächenhaft ausgebreitet wurden. Solche mit Deckglas versehenen und mit Wachsrand gedichteten Präparate erhielten sich bisweilen einige Tage

brauchbar. Die Konservierung der fertigen Flächenpräparate wurde mit konzentriertem Glyzerin vorgenommen. Solche Glyzerinpräparate zeigten die Melaniridosomen meist ganz gut erhalten, nur der Metallglanz der Guaninkristalle der Iridosomen war etwas verändert.

Zur Gewinnung von Material für Schnitte wurden Hautstücke mit 80- bis 95prozentigem Alkohol fixiert, wobei die Guaninkristalle sich unverändert erhielten. Kam es hierauf nicht an, so diente Eisessig-Sublimatlösung (5 Prozent Eisessig) als Fixierungsflüssigkeit.

Zur Auflösung der Guaninkristalle wurde 4- bis 10prozentige Formollösung bei längerer Einwirkung auf die Hautstücke benutzt, oder die fertigen Schnitte wurden mit dünnen Mineralsäuren, meist Salzsäure behandelt. Da die Guaninkristalle sehr empfindlich sind und sich sehr leicht auflösen, dürfen zum Einschluß nur völlig säurefreies Glyzerin und säurefreier Kanadabalsam benutzt werden.

Auch bei der Färbung der aufgeklebten Schnittserien ist große Vorsicht geboten, da die Guaninkristalle bei Anwendung alaunhaltiger Farbstoffe leicht zugrunde gehen. Verf. benutzte deshalb nur ganz schwache, gut tingierende Lösungen von Hämatoxylin und ließ diese auch nur kurze Zeit einwirken. Sehr vorteilhaft erwies sich eine Nachfärbung mit Bismarckbraun, wobei die Guaninkristalle eine gelblichbraune Färbung annahmen und dadurch sehr deutlich hervortraten.

E. Schoebel (Neapel).

Mieremet, C. W. G., Über Systemerkrankung und Tumorbildung der blutbereitenden Organe [Zugleich ein Beitrag zur Myelomfrage] (Virchows Arch. Bd. **219**, 1915, H. 1, p. 1—41).

Es wurden Ausstrichpräparate von Leichenblut (Schenkelvene) und von Knochenmark angefertigt und in Methylalkohol fixiert. Färbung nach Giemsa und nach Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa-Doppelfärbung). Zur Anfertigung von Schnittpräparaten wurden Stückchen von den verschiedensten Organen und Knochen in verschiedener Weise fixiert, und zwar wurden untersucht: 1) Formolfixierung: Femurknochenmark, Beckenschaufel mit angrenzender Muskulatur an Innen- und Außenseite, Lumbal- und Sakralwirbel, Tibia, Humerus, Rippen (mit Interkostalmuskulatur), das Gewebe an der Schädelbasis beim rechten Auge, Milz, Leber, Niere, Herz und Lunge. 2) Orthsches Gemisch (Müller-Formol): Beckenschaufel und Muskulatur, Rippen, Schädeldach, Tonsille, Lymphdrüse, Milz, Leber, Niere. 3) Alkoholfixierung: Femurmark, Lymphdrüse, Milz, Leber, Niere, Lunge. 4) Sublimatfixierung: Femurmark, Lymphdrüsen, Milz, Leber, Niere. 5) Azeton-Lucidol (Szécsi): Knochenmark, Lymphdrüsen, Milz, Leber, Niere, Herz. Teilweise wurden Gefrierschnitte angefertigt, zum größten Teile Paraffinschnitte. Gefärbt wurden die Schnitte mit: Hämatoxylin-(Delafield-)Eosin, May-Grünwald, Giemsa, Methylgrün-Pyronin, polychromem Methylenblau, nach Pappen-

heim (May-Grünwald-Giemsa-Doppelfärbung, und zwar die Azeton-Lucidolpräparate), nach Altmann-Schridde und nach Schultze (Oxydase-Reaktion). *Schiefferdecker (Bonn).*

Neal, H. V., The morphology of the eye muscle nerves (Journ. of Morphol. vol. **25**, 1914, no. 1, p. 1—163 w. 9 pl.).

Verf. hebt hervor, daß so manche Untersuchungen über die Histogenese von nervösen Bildungen an Material ausgeführt worden sind, das mit ungeeigneten Methoden behandelt war. Hierdurch sind viele Irrtümer entstanden. Man muß für die verschiedenen Zwecke der Untersuchung verschiedene Methoden verwenden, um nicht in Irrtümer zu verfallen. Verf. verwandte von den jetzt üblichen letzten Methoden die Cajalschen Methoden mit Silbernitrat, die Modifikation der Methode von Bielschowsky von Paton, die Molybdänsäure-Hämatoxylin-Färbung von Held und die Pikrinsäure-Essigsäure-Osmiumsäure-Platinchlorid-Pyrogallussäure-Methode von vom Rath. Diese Methoden ergaben nach ihm ausgezeichnete Resultate.

Schiefferdecker (Bonn).

Brodersen, Beobachtungen an der Ossifikationsgrenze des Knorpels. II. Die Färbung frischen Knorpels mit Toluidinblau (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1915, No. 22, 23, p. 577—595 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text).

In einer früheren Veröffentlichung (Anat. Anzeiger Bd. **41**, No. 14) hat Verf. schon einige Angaben über die Färbung frischen Knorpels mit Toluidinblau gemacht. In der vorliegenden Arbeit teilt er Methoden zur Färbung unfixierter Schnitte mit, die nicht nur sehr schöne Bilder liefern, sondern auch in physikalisch-chemischem Sinne von größerem Interesse sind als die gewöhnlichen Färbungen an fixierten Präparaten. Die Färbungsresultate am Knorpel des Femurköpfchens des Frosches wurden erreicht durch Anwendung von Toluidinblau in wässeriger Lösung entweder allein oder mit Zusatz von Laugen, Säuren, Salzen. So einfach die Zustände sind, so kompliziert ist der Aufbau der färbenden Substanz, deren Konstitutionsformel noch nicht sicher feststeht. Auf dem Objektträger mit Wasser angerührt, in dünner Schicht ausgebreitet und getrocknet ist die Farbe (bezogen von Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig) graublau. Der trockene Anstrich, mit wenig destilliertem Wasser versetzt, ist rotviolett, mit reichlichem Wasser hellblau. Eine konzentrierte Lösung, die in dünner Schicht rotviolett erscheint, ist in dicker Schicht blauviolett. Eine 0·005prozentige wässerige Lösung sieht im Reagenzglase kornblumenblau aus. Je 7 cc von dieser Lösung schüttelt man mit je 3 cc von Äther, Chloroform, Terpentin, Xylol, Terpentin-Cholesterin, Terpentin-Lecithin (gesättigte Lösungen von Cholesterin und Lecithin in Terpentinöl). Es färbt sich der Äther leicht bläulichrosa, das Chloro-

form hellblaulila, das Xylol leicht bläulichrosa, das Terpentin hellrosa, das Terpentin-Cholesterin hellrosa, das Terpentin-Lecithin trüb hellblaugrün. Alle Farben in den Zusatzflüssigkeiten sind hell und zart. Es löst sich also wenig in ihnen. Eine geringe Ansäuerung der Farblösung (auf 10 cc 1 cc 0·1prozentiger Salzsäure) ändert an dem Schüttelresultate nichts. Bei stärkerer Ansäuerung bleibt die Zusatzflüssigkeit, Äther, Chloroform usw. nach dem Schütteln ungefärbt. Also der nach kräftiger Ansäuerung im Reagenzglase vorhandene Farbstoff löst sich in den Zusätzen nicht. Die kräftig angesäuerte Farblösung sieht blaugrün aus. Wenn man die 0·005prozentige Farblösung alkalisiert (auf 10 cc 1 cc des konzentrierten 15 Prozent NaOH enthaltenden Liquor natrii caustici Bé 36°), so sieht sie rotviolett aus. Schüttelt man sie nun mit den vorerwähnten Zusätzen, so färbt sich der Äther dunkelrotviolett, das Chloroform dunkelrot, das Terpentin dunkelblauviolett, das Xylol dunkelrot, das Terpentin-Cholesterin dunkelblauviolett, das Terpentin-Lecithin dunkelblau. Immer also löst sich die alkalisierte Farbe reichlich im Zusatze, reichlicher als in Wasser und sie löst sich in den verschiedenen Mitteln verschieden. Dies wird deutlicher, wenn man den Zusatz reichlicher nimmt, also die 3 cc mit der gleichen Flüssigkeit verdünnt. Dann ist die Färbung des Äthers ziegelrot, des Chloroforms blauviolett, des Terpentins blaulila, des Xylols weinrot, des Terpentin-Cholesterins rotlila, des Terpentin-Lecithins zeisiggrün. Setzt man endlich zu der 0·005prozentigen Toluidinblaulösung Kochsalz (auf 10 cc 1 cc 10prozentiger Kochsalzlösung) so sieht die Lösung violett aus, und zwar etwas röter als die reine Toluidinblaulösung. Geschüttelt mit den Zusätzen gibt sie dieselben Resultate wie reine Toluidinblaulösung. Daran ändert auch ein stärkerer Salzzusatz nichts. Alle diese vier Flüssigkeiten sind in gleichmäßiger, größerer, wässeriger Verdünnung hellblau. Die später zu beschreibenden Färbungsresultate mit diesen vier Flüssigkeiten an frischem Knorpel sind aber auch zu erreichen, wenn man statt der Salzsäure eine andere Säure oder ein sauer reagierendes Salz, statt der Natronlauge eine andere Lauge oder ein alkalisch reagierendes Salz und statt des Kochsalzes ein anderes neutral reagierendes Alkalisalz nimmt. Statt Toluidinblau kann man auch das verwandte Methylenblau verwenden. Die durch Säure- oder Laugenzusatz oder durch reines Toluidinblau erhaltene Färbung bei intakter Zelle wird umgewandelt bei Schrumpfung der Zelle in die Färbung, die durch Zusatz eines neutralen Alkalisalzes entsteht. Dies dürfte sich erklären durch den Austritt solcher Salze aus der Zelle. Der Zusatz darf nicht unter eine genau feststellbare Menge, die zur Farbstoffmenge in ganz bestimmten Verhältnissen steht, sinken, wenn man elektive, reine Färbungen erhalten will. Setzt man weniger hinzu, so tritt nebenbei immer der Färbungseffekt des reinen Toluidinblaues auf. Dieser Färbungseffekt tritt auch dann immer nebenbei auf, wenn man entweder lange färbt oder bei kurzer Färbung den

Schnitt sehr schnell in der Farblösung bewegt. Dies und die oben angegebenen Nuancenänderungen der Farbe durch den Zusatz lassen darauf schließen, daß durch den Zusatz neue Farben entstehen neben dem reinen Toluidinblau, und zwar je nach Quantität des Zusatzes in geringerer oder größerer Menge. — Wenn man das Femurköpfchen des Frosches in Querschnitte von 50 μ Dicke zerlegt, so erhält man Scheiben, die alle am Rande eine nach der Hansenschen Knorpelfärbungsmethode sich intensiv rot färbende, durchschnittlich etwa 3 μ dicke Schicht aufweisen. Von dieser Schicht wird bei der folgenden Untersuchung abgesehen. Bei den tieferen Schnitten beginnen die Kalkeinlagerungen, die immer mächtiger werden und eine zentrale verkalkte Partie bilden; weiterhin findet man dann eine ringförmige Kalkzone, die ein kalkfreies, von der Peripherie sich mannigfach unterscheidendes Zentrum umgrenzt. Verf. unterscheidet die Kalkzone von der sie außen umschließenden Peripherie und dem nach innen von ihr umschlossenen Zentrum. In der Peripherie unterscheidet er drei Zonen: die erste liegt der oben erwähnten Außenschicht an, die dritte ist der Kalkzone benachbart, die zweite liegt zwischen ihnen. Für die vorliegenden Untersuchungen wird vorzugsweise diese zweite Zone benutzt. In ihr liegt reiner, unverkalkter, hyaliner Knorpel mit großen Zellen und reichlicher Grundsubstanz. — 1) Zellfärbung. Diese erhält man mit Toluidinblau in wässeriger Lösung nach Zusatz von Natronlauge, Lithium carbonicum, Natriumkarbonat, Magnesiumkarbonat oder anderen alkalisch reagierenden Salzen. Die verschiedenen Nuancen, in denen die einzelnen Bestandteile der Zelle nach der Färbung erscheinen, sind bei Auer-Licht-Beleuchtung gesehen. Bei kurzer Einwirkung färben sich im Zelleibe größere Körnchen und Ringe rotviolett und der Kern matt türkisblau. Er bleibt eine Weile so, während die Körnchen und Ringe sich immer kräftiger färben. Sie schließen sich, wenn sie nicht zu zahlreich sind, als ein mannigfach gestaltetes Ganzes an. Im Kerne färben sich türkisblau größere und kleinere Körnchen oder Brocken und die Membran. Später färben sich im Zelleibe feinere regelmäßig angeordnete Körnchen grauviolett, stechen also von den gröberen rotvioletten Körnchen und Ringen klar ab. Manchmal verschwindet die rotviolette Körnchenfärbung, wenn die grauviolette auftritt. Endlich färben sich im Kerne die vorher erwähnten Körnchen und Brocken und die Membran blau oder tiefblauviolett und schließlich in derselben Nuance der Kernsaft und die bisher grauvioletten Körnchen des Zelleibes. Kurz vor der Zellschrumpfung verliert der Kern plötzlich die Färbung fast ganz, ohne daß seine Form und Größe sich ändert. Im übrigen aber verändern sich die Zellen während der ganzen Färbedauer nicht sichtbar, auch die Brownsche Bewegung hält in ihnen an. Dieselbe Färbung kommt in der Kalkzone und den nach der Peripherie und dem Zentrum zu angrenzenden Zonen auch zustande bei Anwendung von reiner Toluidinblaulösung ohne Zusatz. Nur alkalisierte Farbe wird in der Zelle ge-

speichert. — 2) Färbung des Perizellulariums. Der Ausdruck „Perizellularium“ soll nichts anderes bedeuten als die der Zelle anliegende etwa 1·4 μ dicke Schicht der Grundsubstanz, die sich anders verhält als die Zellumgebung. Sie läßt sich in aller Schärfe sowohl mit reinem Toluidinblau als mit mäßig angesäuertem überall da färben, wo die Zelle ungeschrumpft ist. Bei schwacher Färbung sieht man, daß in dem Perizellularium sich nur Körnchen, die mehr oder weniger deutlich voneinander geschieden sind, rotviolett färben. In der Peripherie färbt sich sowohl wie im Rande des Zentrums bei intensiverer Färbung die ganze Umgebung der Zelle in der erwähnten Dicke von 1·4 μ gleichmäßig, ohne daß man noch die ersten Körnchen erkennen könnte. Diese Färbung ist präzis und elektiv: dort, wo die Zellen intakt sind, wird kein anderer Bestandteil des Schnittes gefärbt. Verf. geht dann noch auf abweichende Färbungen ein. — 3) Färbung des Hofes. An einem in reinem Toluidinblau gefärbten Schnitte in der zweiten Zone der Peripherie in Kochsalzlösung (0·9 Prozent) sieht man, daß die Perizellularfarbe an die Körnchen der Grundsubstanz übergeht und nach gänzlicher Entfärbung des Perizellulariums findet man um diese dünne, helle Schicht einen breiteren Kranz von feineren Körnchen, dabei ist die Zelle unverändert. Dasselbe erreicht man schneller, wenn man den frischen Schnitt in Toluidinblaulösung mit Kochsalzzusatz legt. Dann sind alle Höfe gefärbt, ohne daß die Zellen sich sichtlich verändert hätten, und ohne daß sich ein anderer Bestandteil des Schnittes mitfärbte. Eine längere Färbung des Schnittes in dieser Farblösung, die aber nur so lange dauern darf, daß die Zellen noch unversehrt sind, zeigt dann, daß dieser erste Hof, der nun kräftig rotviolett aussieht, von einem zweiten umgeben wird, dessen Körner nicht so dicht liegen und ebenfalls rotviolett, aber nicht so kräftig gefärbt sind. Jetzt tritt auch die Lagerung der Zellen in Nestern deutlich hervor, diese sind voneinander geschieden durch Knorpelsubstanz, die bei dieser Färbung hell bleibt, und die Verf. als „Zwischensubstanz“ bezeichnet. Wegen weiterer Färbungen wird wieder auf das Original verwiesen. — 4) Färbung der Zwischensubstanz. Diese kann man neben dem Perizellularium bei intakter Zelle durch längeres Färben in leicht angesäuertem Toluidinblau darstellen, aber nicht vollständig und nicht scharf. Besser legt man 10 μ dicke Schnitte in stark angesäuerte Farblösung. Die Zellen würden in dieser abgetötet werden, sie sind aber aus so dünnen Schnitten herausgefallen. In dieser Lösung färbt sich der erste Hof und die Zwischensubstanz. Der zweite Hof, sowie das gequollene Perizellularium färben sich gar nicht. Die Färbung der Zwischensubstanz betrifft ebenfalls Körnchen. Die Umgrenzung der Nester ist nun sehr deutlich. — Verf. meint hiermit die Grundlage für eine neue Färbung des Knorpelgewebes gegeben zu haben. In einem Anhange bespricht er ausführlich die Technik. Als Material diente Rana temporaria in Exemplaren verschiedener Größe.

Die Tiere wurden nach Betäubung durch Schlag auf den Kopf dekapitiert. Das Femur wurde herauspräpariert und das Femurköpfchen auf dem Mikrotome in Querschnitte zerlegt von 50 μ Dicke. 2 Minuten nach dem Tode des Tieres lagen die Schnitte schon in der Farbflüssigkeit. — Das Toluidinblau war bezogen von Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig. Die konzentrierte Salzsäure hat das spezifische Gewicht 1·19. — Die allmähliche Entstehung der Färbung und ihre Veränderung durch Zusätze beobachtete Verf. in einer von ihm konstruierten und von der Firma Kobe in Marburg hergestellten Glaszelle. Eine starke Glasplatte von 12 : 8 cm wird in der Mitte von einem Loche durchbohrt (Durchmesser 2 cm). Unter die Schmalseiten der viereckigen Platte werden 8 mm dicke, 3·5 cm breite und 8 cm lange Glasplatten gekittet. Der Kitt besteht aus einem Teile von gelbem Wachse und zwei Teilen Kolophonium. Das Loch wird von unten her durch ein Deckgläschen von 24 mm Seite, Dicke c, verschlossen. Dieses Deckgläschen kann, wenn es zertrümmert ist, leicht durch ein neues ersetzt werden, das mit einem heißen Eisen sanft gegen den sitzengebliebenen Kitt angedrückt wird. Zu beiden Seiten des Loches und an der dem Beschauer gegenüberliegenden Seite werden drei Löcher gebohrt. Die beiden seitlichen nehmen jedes eine dünne Glasröhre auf, so daß diese mit der Unterseite des Objektträgers abschließt und fest eingekittet wird. Das dritte Loch enthält ein Thermometer, dessen Quecksilberbehältnis zu der Röhre in rechtem Winkel abgebogen ist. Weiter gehört zu dem Apparate ein dünnwandiges kreisrundes Glasschälchen* von 11 mm Höhe und 36 mm innerem Durchmesser. In den Boden dieses ist ein Platindraht eingekittet, der mit einer länglichen Öse endigt. Der Draht ist so gestellt, daß die horizontal stehende Öse in die Mitte der Eingangsebene des Gläschens zu liegen kommt. Das Präparat wird auf die Mitte des Deckgläschens gelegt, das Glasschälchen wird so gegen den Objektträger gedrückt, daß es alle vier Löcher umschließt und das Präparat von unten her festhält. Dann wird es mit dem Wachskolophoniumkitt leicht und schnell festgekittet. Dann werden mit einer der beiden seitlichen Glasröhren zwei Glasgefäße verbunden durch Vermittelung einer Y-förmigen Röhre, die durch einen dreifach durchbohrten Hahn mit einer gewöhnlichen Korkflasche verbunden ist. Von diesen Glasgefäßen ist eins ein großes Meßgefäß voll destillierten Wassers, das andere eine Bürette mit der Farbflüssigkeit. Man kann daher durch passende Einstellung des dreifach durchbohrten Hahnes Farbflüssigkeit in die Glaszelle laufen lassen in beliebig schnellem Strome. Sie wird durch die andere seitliche Glasröhre wieder ablaufen. Will man die Färbung unterbrechen, so stellt man den Strom ab und öffnet den Hahn des großen Meßgefäßes. In kurzer Zeit wird dann das destillierte Wasser die Farbflüssigkeit ersetzt haben. Will man jetzt den Schnitt mit einer anderen Flüssigkeit, z. B. mit einem Fixierungsmittel behandeln, so dreht

man den dreifach durchbohrten Hahn, daß der Inhalt der Bürette in das Korkglas abfließt, auch den Rest der Farbflüssigkeit in dem einen Schenkel des Y-förmigen Rohres kann man in das Korkglas ableiten. Dann spült man die Bürette mit destilliertem Wasser durch und füllt sie mit der Fixierungsflüssigkeit. Der Strom des destillierten Wassers wird abgestellt und das Fixierungsmittel in die Glaszelle geleitet. Will man die Temperatur der einzelnen Flüssigkeit erhöhen oder erniedrigen, so schaltet man zwischen Glaszelle und dem Y-förmigen Rohre eine mit Ein- und Ausfluß versehene Glaskugel ein, deren Inhalt man erwärmen und abkühlen kann. Die Temperatur, unter der die Zellen des Schnittes stehen, kann man an dem Thermometer direkt ablesen. Soll das Präparat durch ein neues ersetzt werden, so wird das Glasschälchen durch einen leichten Stoß entfernt. Bevor ein neues Präparat eingesetzt wird, muß der Objektträger gut abgetrocknet, der drehbare Objekttisch des Mikroskopes abgeschraubt und der Apparat auf dessen Träger gestellt werden. Die Linse des Abbeschen Beleuchtungsapparates wird gegen den Boden des Glasgefäßes geschraubt. Die Beleuchtung ist, falls die Farbflüssigkeit nicht zu dunkel ist, auch für Ölimmersion ausreichend. Derselbe Apparat kann, da er vollkommen luftdicht schließt, mit anderen Nebenapparaten auch für die Untersuchung der Wirkungen verschiedener Gase auf die Zellen benutzt werden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Eklöf, H., Chondriosomenstudien an den Epithel- und Drüsenzellen des Magen-Darmkanales und den Oesophagus-Drüsenzellen bei Säugetieren (Anat. Hefte, H. 153 [Bd. **51**, H. 1], 1914, p. 5—227 m. 8 Tfln.).

Verf. teilt die einzelnen für die Färbung der Chondriosomen in Betracht kommenden Methoden eingehend mit. Man findet daher hier eine gute Zusammenstellung derselben. Er selbst bediente sich hauptsächlich der folgenden Färbungsmethoden: des sulfalizarinsauren Natriums (Benda) nach den näheren Vorschriften von Benda und Kolster, der Eisenhämatoxylinmethode und der Altmannschen Säurefuchsin-Pikrinsäuremethode. Die Resultate mit den beiden ersten Färbungsmethoden sind ungefähr, aber nicht ganz dieselben, denn in serösen Drüsenzellen (den Hauptzellen) und in den Belegzellen nehmen nicht alle Sekretgranula (resp. Chondriosomen) die Eisenhämatoxylinfärbung an. Es gilt dies besonders für solche Granula, die ein gewisses Auflösungsstadium im Sekrete erreicht haben. Solche Granula bleiben ungefärbt in Eisenhämatoxylin, werden aber gut gefärbt von Kristallviolett, infolgedessen erscheinen in Kristallviolettpräparaten mehr Sekretgranula (oder in Belegzellen Chondriosomen) als in Eisenhämatoxylinpräparaten gefärbt. Bei Anwendung von Eisenhämatoxylin kann man dies dadurch vermeiden, daß man nach E. Müller die Eisenhämatoxylinpräparate mit Säurefuchsin nachfärbt, wodurch diejenigen Sekretgranula, die in den Eisenhämatoxylinpräparaten nicht

oder nur wenig Farbstoff annehmen, durch Fuchsin rot gefärbt werden. Durch dieses Verfahren verlieren die Präparate etwas an Deutlichkeit. Die Eisenhämatoxylinfärbung war in einigen anderen Fällen (für die Oesophagusdrüsenzellen und die Pylorus- und Brunnerschen Drüsenzellen) in bezug auf das Hervortreten der Chondriosomen weniger günstig als die Kristallviolettfärbung, weil das in diesen Drüsenzellen vorhandene zytoplasmatische Netzwerk, in dem die Chondriosomen eingelagert sind, intensiv durch Eisenhämatoxylin gefärbt wird, wodurch dann die Chondriosomen ohne vorausgehende sehr starke Chromierung schwer nachweisbar sind. Verf. ist infolgedessen der Ansicht, daß die Kristallviolettmethode von Benda mehr angewandt werden müßte, als es jetzt geschieht. — Nach Kolsters Vorschrift vorbehandelte Präparate sind auch der Säurefuchsinfärbung zugängig, entweder in der von Altmann angegebenen Weise mit Erwärmen, oder einfach so, daß die Schnitte längere Zeit in einer Säurefuchsinlösung liegen und nachher mit Pikrinsäure entfärbt werden: die Chondriosomen werden intensiv rot gefärbt, treten aber nicht so deutlich hervor wie in Eisenhämatoxylin- oder Kristallviolettpräparaten, da die Grundsubstanz der Zelle auch rot gefärbt wird. Die Mallory-Färbung fand Verf. für sein Material kaum verwendbar, er erhielt eine diffuse Färbung, selten aber eine Herausdifferenzierung von Chondriosomen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Chevallier, P., Die Milz als Organ der Assimilation des Eisens (Virchows Arch. Bd. **217**, 1914, H. 3, p. 358—393).

Verf. hat sich zum Nachweise des Eisens an die klassische Methode gehalten. Er ist der Ansicht, daß die aufeinanderfolgende Einwirkung des Eisencyankaliums und der Salzsäure, die dem Eisen eine bläuliche Färbung verleiht, das beste Verfahren zum Nachweise des Eisens bildet. Nach mehreren Monaten ist jedoch die Färbung etwas verblichen, und um Beweispräparate aufzubewahren, zeichnet man am besten günstige Präparate ab. Zur Fixierung lege man kleine Stückchen in Alkohol, oder in die Lösungen von Bouin, Flemming, Tellyesniczky usw. Legt man keinen Wert auf sehr feine Einzelheiten in den Zellen, so ist der Alkohol äußerst bequem und genügt zur Erhaltung. Verf. benutzt auch oft die Lösung von Bouin. Einschluß in Paraffin, die Schnitte verschieden dick. *Schiefferdecker (Bonn).*

Hammar, J. A., Methode, die Menge der Rinde und des Markes der Thymus sowie die Anzahl und Größe der Hassallschen Körper zahlenmäßig festzustellen, unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse beim Menschen (Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre Bd. **1**, 1914, H. 4, 5, p. 311—396 m. 31 Figg. im Text).

Das zu untersuchende Organ muß in frischem unfixiertem Zustande von dem umgebenden Fett- und Bindegewebe freipräpariert und dann gewogen werden. Die Präparation muß vorsichtig ohne jeden Druck des Organes geschehen. Sie hat nicht nur deshalb Bedeutung, weil das auf diese Weise gewonnene Totalgewicht des Organes den folgenden Berechnungen zugrunde gelegt wird und deshalb möglichst genau sein muß, sondern auch weil dies dem Organe außen anhaftende Gewebe meistens recht regellos verteilt ist, so daß eine Verallgemeinerung des an einem oder einigen Schnitten gemachten Befundes leicht irreführen kann. Ist eine solche Freipräparierung der Organoberfläche vor der Konservierung des Organes nicht in genügender Weise geschehen, so läßt sie sich auch nachträglich ausführen. Nur müssen dann Partialwägungen sowohl des abpräparierten Gewebes wie des freigelegten Organes ausgeführt und das Gewicht des frischen Thymuskörpers reduziert werden nach der Gleichung: Formel 1: $G_k = \frac{T}{T + F} \cdot G$, wo G das Gewicht des frischen Organes samt dem anhaftenden Fett- und Bindegewebe, F das Gewicht des fixierten abpräparierten Fett- und Bindegewebes, T das Gewicht des von diesem Gewebe befreiten Thymuskörpers und G_k das gesuchte Gewicht desselben Thymuskörpers im unfixierten Zustande bezeichnen. — Zur Fixierung läßt sich jede Fixierungsflüssigkeit benutzen, die ein gutes Durchdringungsvermögen besitzt und das gleichmäßige Färbungsvermögen des Parenchyms nicht beeinträchtigt, z. B. Formol, Alkohol, Tellyesniczkysche Flüssigkeit. Am bequemsten fixiert man in Formol, das im Laufe des ersten Tages gewechselt wird. Die Formolfixierung ändert nicht viel an dem Frischgewichte der Thymus, so daß man, wenn ein Organ versehentlich nicht frisch gewogen wurde, sondern nach der Fixierung zur Untersuchung kam, ohne allzu großen Fehler das nachträglich gewonnene Gewicht als Notersatz des Frischgewichtes benutzen kann. Dies muß dann aber besonders bemerkt werden. Ist das Organ nicht übermäßig groß, so kann es unzerstückelt in die Fixierungsflüssigkeit gebracht werden. Bei sehr großen Organen, besonders den hyperplastischen, können Einschnitte nötig werden. Diese werden am besten quer gelegt. — Sollen zwecks spezieller Behandlungsmethode kleinere Stückchen dem Organe entnommen werden, was natürlich erst nach erfolgter Wägung geschehen darf, so entnimmt man diese am besten dem obersten oder untersten Abschnitte der Lappen, so daß das dickere Mittelstück jedenfalls für die Übersichtsschnitte übrigbleibt. — Als Einbettungsmittel wurde Paraffin benutzt. Wenn mit Zelloïdin ebenso dünne und gleichmäßige Serienschnitte herzustellen wären, so würde dieses vorzuziehen sein, da sich so der größte Teil der bei Paraffineinbettung eintretenden Schrumpfung vermeiden ließe. Da aber dünne Schnitte von ganz bestimmter Dicke eine unerläßliche Vorbedingung der Methode sind, mußte Paraffineinbettung vorgezogen werden. Für die Parenchymbestimmung hat

die Schrumpfung nur insofern Bedeutung, als sie die verschiedenen Gewebsarten ungleichmäßig trifft. Es kommt hier nämlich nicht auf die absolute, sondern nur auf die relative Ausdehnung der Gewebsbezirke an. Ein solches ungleichmäßiges Schrumpfen kommt aber vor und hat in der Arbeit Berücksichtigung gefunden. Für die Feststellung der Zahl der HASSALLschen Körper hat die Schrumpfung eine noch auffallendere Bedeutung. Durch vorsichtiges und methodisches Vorgehen beim Einbetten kann die Schrumpfung aber auf einem gewissen, ziemlich gleichmäßigen Niveau erhalten werden. Zur Durchtränkung des Gewebes benutzte Verf. aus diesen Gründen Zedernholzöl, der Schmelzpunkt des Paraffins muß niedrig sein (47 bis 48°) und das Durchdringen durch mehrmaliges Wechseln beschleunigt werden. Höhere Wärmegrade und längerer Aufenthalt im Paraffinbade machen das Material leicht unter gleichzeitiger starker Schrumpfung spröde und hart. Bei dieser Methodik lassen sich gewöhnlich Schnitte von 12 μ anfertigen, die dem ganzen Umfange eines Lappens der menschlichen Thymus entsprechen. Bei ungewöhnlich großen Dimensionen kann es allerdings nötig werden, das zum Schneiden kommende Stück zu verkleinern. Besondere Schwierigkeiten bieten gewöhnlich nur die stark bindegewebhaltigen, akzidentell involvierten Organe. — Jedem Thymuslappen müssen mindestens zwei Querscheiben von je etwa 5 bis 10 mm Dicke zum Einbetten und Schneiden entnommen werden, wobei die Lage der Scheiben so gewählt werden soll, daß einmal die, welche einem und demselben Lappen entstammen, nicht unmittelbar aufeinander folgen, sondern durch ein Zwischenstück getrennt sind, und wobei diese zweitens von der Mitte des Lappens nicht soweit entfernt liegen dürfen, daß nicht die ihr entstammenden Thymusquerschnitte mehr als die Hälfte der Flächenausdehnung des maximalen Querschnittes des Thymuslappens betragen. Aus jeder solchen Querscheibe muß wenigstens ein tadelloser Thymusquerschnitt, also im ganzen vier Querschnitte, angefertigt und zur folgenden Bearbeitung benutzt werden. Zur Färbung genügt meistens eine Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. Nur wenn es auf ein besonders scharfes Hervorheben der bindegewebigen Abschnitte ankommt, ist eine Kollagenfärbung, z. B. Eisenalaun-Hämatoxylin-VAN GIESON-Färbung vorzuziehen. Wegen der weiteren Details und namentlich wegen der Art der Berechnung wird auf das Original der sehr eingehenden Arbeit verwiesen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Scaglione, S., Die Drüsen mit Innensekretion bei der Chloroformnarkose (VIRCHOWS Arch. Bd. **219**, 1915, H. 1, p. 53—68).

Zu den Untersuchungen wurden ausschließlich Meerschweinchen herangezogen, deren Innensekretionsorgane sowohl unter normalen, wie auch unter verschiedenen Versuchsverhältnissen erforscht worden waren. Zu diesem Zwecke wurden drei durchaus gesunde Meer-

schweinchen gewählt, die zu keinem Versuche verwandt wurden. Vier Tiere wurden nach 1stündiger Chloroformnarkose getötet, drei nach 2stündiger, drei nach 3stündiger, vier nach 5stündiger Chloroformnarkose. Endlich wurden vier Tiere 24 Stunden nach fast 4stündiger Chloroformeinwirkung getötet. Tötung stets durch Verblutung. Zur Erforschung der Organe mit Innensekretion wurden die Frischfärbung mit Neutralrot in 1prozentiger physiologischer Kochsalzlösung, Gefrierschnitte und die Fixierung herangezogen. Zur Fixierung wurden verwendet: die gewöhnliche 10prozentige Formollösung, die Flüssigkeiten von Zenker, Altmann, Carnoy und Ciaccio. Färbung: Die doppelte Färbung mit Hämalaun und Eosin, Säurefuchsin und Methylgrün (Verfahren von Galeotti), das Pikrin-Säurefuchsin nach van Gieson, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. — Zum Nachweise und zur Differenzierung der Fette und der lipoiden Substanzen dienten: die schon erwähnte Frischfärbung mit Neutralrot, die Untersuchung von Gefriermikrotomschnitten im polarisierten Lichte, die Färbung von Gefriermikrotomschnitten mit Nilblausulfat, die Fischlersche Methode für die Fettsäuren, die Methode von Glodetz für das Cholesterin (Glodetz, Neue Reaktionen für Cholesterin und Oxycholesterin. [Chem. Zeitg. 1908]), die I. Ciacciosche Methode für die lipoiden Stoffe im allgemeinen, die II. Ciacciosche Methode zur Unterscheidung zwischen Fettstoffen und lipoiden Stoffen. Für die Pigmente benutzte Verf. die Methoden von Hall und Quincke, bei den lipochromen Stoffen das Neumannsche Verfahren.

Schiefferdecker (Bonn).

Kraus, E. J., Das Kolloid der Schilddrüse und Hypophysis des Menschen (Virchows Arch. Bd. **218**, 1914, H. 1, p. 107—128 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text).

Die Untersuchungen des Verf. basieren auf einem im Prinzipe wohlbekannten Färbungsverfahren, das er für das Studium des Kolloids in der Schilddrüse und Hypophyse zweckentsprechend ausgearbeitet hat. Es handelt sich um eine Methode, deren Grundlage die von Unna eingeführte Färbung mit polychromem Methylenblau und Differenzierung mit Tannin, wie sie zur Darstellung des Elazins verwendet wird, darstellt, deren weitere Ausgestaltung sich jedoch abgesehen von mehrfachen Änderungen an ein von E. Fraenkel angegebenes Verfahren zur Darstellung von Bakterien anschließt (Methode von Fraenkel: Färben mit polychromem Methylenblau 15 Minuten bis 24 Stunden, Differenzieren in einer Mischung von wässeriger Lösung von Säurefuchsin, Tannin und Glyzerinäthergemisch [Unna], dann Wasser, Alkohol, Xylol usw.). Der große Vorteil der Methode des Verf. besteht vor allem darin, daß sie die Fähigkeit besitzt, ungemein polychromatisch zu färben, was sich namentlich bei der Darstellung des Kolloids der beiden genannten Organe, das sich bekanntlich bei Anwendung verschiedener Färbungen nicht gleichmäßig färbt, als

großer Vorteil erwies. Die Technik der Methode ist ziemlich leicht für die Schilddrüse, etwas schwieriger für die Hypophyse. Methode: Fixierung der Organe am besten recht frisch in 4prozentiger Formollösung, womöglich bei 37°, sodann vorsichtige Einbettung unter möglichster Vermeidung von Schrumpfung in Paraffin. Die Schnitte sollen sehr dünn sein (am besten nicht über 3 μ) und womöglich mit Eiweißglyzerin aufgeklebt werden. Die Färbung geschieht so, daß man die von Paraffin befreiten, mit Wasser abgespülten Schnitte etwa 6 Minuten in polychromem Methylenblau färbt, in Wasser abspült, mit einer 25prozentigen wässerigen Tanninlösung so lange differenziert, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen und endlich in die Unnasche Säurefuchsin-Tannin-Lösung überträgt. In dieser verbleiben die Schnitte verschieden lange, je nachdem es sich um Schilddrüse oder Hypophyse handelt: bei Schnitten aus der Schilddrüse kommt es auf die Zeit nicht so sehr an, wofern nur die Zellkerne scharf blau hervortreten und das fibrilläre Bindegewebe rot gefärbt erscheint. Anders bei der Hypophyse. Hier soll neben der Darstellung des Kolloids zugleich ein scharfer Kontrast erzielt werden zwischen eosinophilen und basophilen Zellen, was für die Untersuchung gewisser Fragen wichtig ist. Es wird nun bei Hypophysenschnitten so lange unter Kontrolle mit dem Mikroskope in der Säurefuchsin-Tannin-Lösung differenziert, bis alle basophilen Zellen zart rötlich gefärbt erscheinen, die eosinophilen dagegen ihre blaue Farbe beibehalten. Dies ist anfangs schwierig, da man, namentlich bei sehr dünnen Schnitten, sehr leicht zu stark differenziert und dadurch den schönen Kontrast, der besonders durch die darauffolgende Nachfärbung mit Säurefuchsin erzielt wird, vereitelt. Nach Erfolg der Differenzierung gutes Auswaschen der Schnitte in Wasser und dann Nachfärbung mit einer 2prozentigen wässerigen Lösung von Säurefuchsin während etwa 1 Minute. Die Dauer der Nachfärbung hängt von der Dicke der Schnitte ab: dünnere Schnitte im allgemeinen länger als dickere. Nach Abspülen in Wasser werden die Präparate mit einer 1prozentigen wässerigen Lösung von Phosphormolybdänsäure etwa 30 Sekunden differenziert, in Wasser gut ausgewaschen, mit Filtrierpapier vorsichtig abgetrocknet, rasch in 96prozentigem Alkohol entwässert, in Toluol aufgehellt und in neutralen Balsam eingeschlossen. — Zum Studium gewisser Sekretionsvorgänge in beiden Organen empfiehlt es sich öfters, die Nachfärbung zu unterlassen, wodurch dann das Verfahren nur auf die von Unna zur Darstellung des Elazins verwendete Methode mit polychromem Methylenblau und Differenzierung mit Tannin beschränkt wird. Nach Auswaschen der Schnitte in Wasser werden dieselben ebenfalls mit Filtrierpapier abgetrocknet, rasch in Alkohol entwässert und in Toluol aufgehellt. Der Einschluß erfolgt ebenfalls in neutralem Kanadabalsam. — Bei ganz besonders dünnen Schnitten genügt oft die Differenzierung in Tannin allein, worauf nach gründlichem Auswaschen in Wasser direkt die Nachfärbung mit Säurefuchsin erfolgen kann, was

namentlich für die Schilddrüse gilt. — Verf. macht noch darauf aufmerksam, daß die Bilder, die man im Laufe einer systematischen Untersuchung der Schilddrüse zu Gesicht bekommt, ungemein variabel sind, und daß man vor allem nur sehr selten alle Phasen der recht komplizierten Sekretionsvorgänge, soweit man diese überhaupt histologisch zur Darstellung bringen kann, zugleich in einem Präparate zu beobachten Gelegenheit hat. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Segawa, M., Über die Fettarten der Niere mit besonderer Berücksichtigung des physiologischen und pathologischen Fettes (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 58, 1914, H. 1, p. 1—47 m. 1 Tfl.).

Das Material muß möglichst frisch sein, da Fäulnis und autolytische Prozesse den Nachweis von Fett erschweren und unsicher machen können. Es wurde daher nur solches Material verwendet, das nicht älter als 26 Stunden war. Die den Nieren entnommenen Stücke wurden in Orthsche Flüssigkeit oder in 10prozentige Formollösung gebracht und nach der Fixierung auf dem Gefriermikrotome in Schnitte von 15 bis 20 μ zerlegt. Die geraden Harnkanälchen wurden möglichst in der Längsrichtung getroffen, da diese Lage für die Unterscheidung der einzelnen Abschnitte der Harnkanälchen außerordentlich wichtig ist. Gerade auf die Betrachtung der Marksubstanz wurde großes Gewicht gelegt, nur so konnte Verf. seine Beobachtungen auf das ganze Ableitungssystem der Niere vom Glomerulus bis zum Ductus papillaris erstrecken. Die Schnitte wurden stets mit heiß gesättigter Lösung von Scharlach in 80prozentigem Alkohol nach Vorfärbung mit Hämatoxylin und Nilblausulfat gefärbt. Nötigenfalls wurde das Stück auch mit Osmiumsäure behandelt. Die Färbung mit Hämatoxylin und Eosin wurde verwendet, um die Beschaffenheit der Niere im allgemeinen zu untersuchen. Um die Art der Lipoidsubstanzen festzustellen, war es unbedingt nötig, in zahlreichen Fällen die Methoden von Dietrich-Smith, Ciaccio und Fischler anzuwenden. Mit dem Polarisationsmikroskope wurde die Doppelbrechung des Fettes in ungefärbten Präparaten festgestellt. Außer den genannten Methoden wurden zur Untersuchung des lipoiden Pigmentes noch die Reaktion für Lipochrom (Neumann, Lubarsch, Sehrt) und die Eisenreaktion ausgeführt. Das morphologische und mikrochemische Verhalten des Fettes wurde an den folgenden Abschnitten untersucht: den Malpighischen Körperchen, den Tubuli contorti I. Ordnung, den dünnen und dicken Schenkeln der Schleifen, den Schaltstücken, Sammelröhren und dem Interstitium. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Kuć-Staniszewska, A., Zytologische Studien über die Hardersche Drüse. Zugleich ein Beitrag zur Fettsynthese (Anat. Anzeiger Bd. 47, 1914, No. 15, 16, p. 424—431 m. 1 Tfl.).

Die Hardersche Drüse liegt in der Tiefe der Augenhöhle und sondert ein fettartiges Sekret ab. Die Drüse ist wiederholt untersucht worden, aber die fettige Natur des Sekretes wurde bis jetzt nur auf Grund der Löslichkeit in Alkohol, Xylol usw. und durch die Osmiumreduktion bestimmt. Über die Art und Weise der fettigen Sekretion weiß man noch nichts Genaues. Verwendet wurden zur Untersuchung weiße Maus, Kaninchen und Meerschweinchen, bei denen die Hardersche Drüse am schönsten entwickelt ist. Das sezernierte Fett stimmt bei diesen Tieren in seiner chemischen Zusammensetzung nicht überein. Zunächst wurde die Drüse wie bisher üblich behandelt: Fixierung in Formol, Sublimat, den Flüssigkeiten von Zenker, Bouin und Flemming, Paraffineinbettung, Färbung mit Safranin, Heidenhainschem und Böhmerschem Hämatoxylin und der Mischung von Ehrlich-Biondi. In den nach diesen Methoden fixierten und gefärbten Präparaten ergab sich nur Negatives in bezug auf den Forschungszweck: das Fett ging bei der Einbettung in Paraffin infolge der Löslichkeit in Alkohol und Xylol verloren und man erhielt also nur ein Negativbild. Nur bei der weißen Maus nach Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit fand sich Positives, weil hier die Reduktion durch Osmium eintritt. Verf. wandte daher andere Methoden an: Sudan III, Scharlach R, Indophenol, Chlorophyll für alle Fette, welche sich im Organismus und der Drüse finden können, sowohl Stearine, Palmitine oder Oleïne, wie Seifen, Fettsäuren und Neutralfette, ohne sie voneinander zu unterscheiden. Nilblausulfat nach Lorrain Smith und Schmorl zum Unterscheiden der Neutralfette und Fettsäuren. Die Methode von Fischler zum Unterscheiden der Neutralfette, Fettsäuren und Seifen, und die Methode von Margarete Stern (Arch. f. mikrosk. Anat. 1905; vgl. diese Zeitschr. Bd. **22**, 1906, p. 569—570), welche das Unterscheiden der gesättigten von den ungesättigten Fetten erlauben soll. Nach Fixierung der Drüse in Formol, Anfertigung der Präparate mit dem Gefriermikrotom, färbt sich das Sekret mit Sudan III und Scharlach R rot, mit Indophenol dunkelblau, mit Chlorophyll grün. Hierdurch wird schon die fettige Natur des Sekretes bestätigt. Durch die Färbung der Präparate mit Nilblausulfat und mit der Methode von Fischler wurde festgestellt, daß das sezernierte Fett keine Fettsäuren und keine Seifen, sondern Neutralfette oder Mischungen, in denen Neutralfette überwiegen, enthält. Beim Kaninchen und Meerschweinchen bildet das Sekret gesättigte Fette und bei der weißen Maus ungesättigte Fette. Dies war aber nicht zu ersehen auf Grund der Differenzialmethode von Stern, die sich infolge ihrer unbeständigen Zusammensetzung als unsicher erwies, sondern auf Grund der anderen Fixierungen, in denen sich Osmiumsäure befindet, welche sich bekanntlich nur durch die ungesättigten Fette zum metallischen Osmium reduzieren läßt. Weiter hat Verf. die Fette außer mit der Flemmingschen Flüssigkeit, welche die Fette nur bei der weißen Maus fixiert, auf andere Weise zu fixieren gesucht. So wurde die Drüse in ge-

sättigter Lösung von Kalium bichromicum und in MÜLLERscher Flüssigkeit (nach KARWICKA, ZIEGLERS Beiträge Bd. **50**, 1911; vgl. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 380—381) längere Zeit (4 Wochen bis 3 Monate) fixiert, im Gegensatze zu anderen Forschern wurde aber keine Fixierung der Neutralfette erreicht, das gesamte Fett der Drüse von Kaninchen, Meerschweinchen und weißer Maus löste sich bei Paraffineinbettung durch Alkohol und Xylol wieder auf. Verf. ist daher geneigt anzunehmen, daß Chromsalze keine Neutralfette, sondern andere eigenartige, sogenannte „fettähnliche" Substanzen, fixieren. Bestätigt wird dies durch folgendes: nach vierwöchiger Fixierung der Drüse der zwölftägigen Maus in MÜLLERscher Flüssigkeit war das ganze Sekret im Gegensatze zum erwachsenen fixiert, nach anderen Flüssigkeiten, so denen von CIACCIO, REGAUD, MÜLLER-Formol, in deren Zusammensetzung Chromsalze eine wichtige Rolle spielen, geschieht die Fixierung dieser fettähnlichen Substanzen auch. Um auch die Frage, wie die Sekretion des Fettes zustande kommt, zu beantworten, suchte Verf. nach anderen Fixierungsflüssigkeiten, welche wenigstens einen Teil des Sekretes und eine feinere Struktur der Zelle fixieren konnten. Das waren Flüssigkeiten, in denen sich Chromsalze oder Chromsalze und Osmiumsäure befinden: die Flüssigkeiten von ALTMANN, BENDA, MARCHI, REGAUD, CIACCIO, MÜLLER-Formol. Einige Präparate nach diesen Fixierungen blieben ungefärbt, andere wurden in folgender Weise gefärbt: mit Safranin, saurem Fuchsin nach ALTMANN, Kristallviolett nach BENDA, Hämatoxylin nach HEIDENHAIN und WEIGERT, Sudan III und Scharlach R. Auch die von MISLAWSKY modifizierte Methode von REGAUD (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **81**, 1913; vgl. diese Zeitschr. Bd. **30**, 1913, p. 529—530) wurde versucht, Verf. hält sie jedoch nicht für glücklich, da das nach dieser Methode Erhaltene dem mit anderen Methoden Erhaltenen widerspricht. Es waren da zwei Möglichkeiten vorhanden: entweder sind die Gebilde, die man nach den Methoden von FLEMMING, BENDA, ALTMANN, MARCHI erhält, zweifelhaft, oder jene nach MISLAWSKY. Verf. ist geneigt, sich eher den ersten bekannten und viel gebrauchten Methoden als der letzteren anzuschließen.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Cajal, S. Ramón y, Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. I. Degeneración y regeneración de los nervios. Madrid 1913. 414 pp. u. 147 figg.

In diesem umfangreichen Werke über die Degeneration und Regeneration der Nerven widmet Verf. ein Kapitel (Kap. 2) der Technik. Ich mache hier ausdrücklich auf diese kurze Zusammenstellung der wesentlichen Technik aufmerksam, referieren läßt sich dieses Kapitel natürlich nicht. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Lewy, F. H., Beitrag zur Kenntnis der Lymphwege des Gehirnes [Der Transport in der Lymphe löslicher Substanzen] (Arch. f. Anat. u. Physiol., 1914, anat. Abt., H. 2, 3, p. 143—156 m. 1 Tfl.).

Nachdem von Cajal selbst und seinen Schülern gezeigt worden war, daß die Ausläufer der protoplasmatischen Gliazellen in der Rinde einen weitverzweigten Filz bilden und auf ihren Fortsätzen fuchsinophile Granula tragen, die als Sekretionsprodukte der Glia aufzufassen sind, war es interessant zu untersuchen, ob nicht ins Gehirn eingeführte oder dort gebildete Lösungen während ihres Abtransportes zu den Gefäßen in sichtbarer Form fixiert werden könnten. Zu diesem Zwecke hat Verf. Blutlaugensalz, ins Gehirn gebracht, und seinen Abtransport durch Fixierung an Ort und Stelle mit einem Eisensalze verfolgt. Das gleiche Prinzip ist von Guillain für die peripheren Nerven verwandt worden. Es mußte aber die Möglichkeit ausgeschlossen werden, daß ein Reduktionsvorgang dabei eine Rolle spielen konnte. Es wurden daher nicht rotes Blutlaugensalz und Eisenchlorid gewählt, um so mehr, als das letztere sehr schlecht diffundiert. Der Versuch damit ergab denn auch, daß bei der Anwendung des letztgenannten Mittels sich schnell ein diffuser Niederschlag auf der Oberfläche bildet, der ein weiteres Eindringen ins Innere hindert. Es wurden daher für die vorliegenden Versuche gelbes Blutlaugensalz und Eisenchlorid in mannigfacher Versuchsanordnung verwendet. Einem Kaninchen wurde intravital ein 5 bis 30 mg schwerer Kristall von gelbem Blutlaugensalze mit oder ohne Kollodiumsäckchen ins Gehirn versenkt. Nach 1 bis 5 Stunden wurde das Tier entblutet, das Gehirn, ohne es mit Eiseninstrumenten zu berühren, herausgenommen, mit Glasplättchen in dünne Scheiben zerlegt und in einer 5prozentigen Lösung von Eisenchlorür der Luft ausgesetzt. Nach 12 bis 24 Stunden tritt eine Blaufärbung ein, worauf man die Gehirnscheiben zum Nachhärten in eine 10prozentige Formollösung legt. Die Färbung wird im Formol noch dunkler. Von den fixierten Blöcken wurden dann Gefrierschnitte von 12 bis 25 μ Dicke angefertigt und gefärbt, z. B. mit Parakarmin-Mayer. — Außer dieser Methode wurden noch verschiedene andere ausgeführt. So wurde wieder ein Kristall ins Gehirn versenkt. Nach einigen Stunden wurde das Tier nach dem Vorgange Kolmers von der Jugularis aus mit Ringerscher Lösung bis zur Blutleere und dann mit Eisenchlorid durchspült, sodann vom schlagenden Herzen aus mit Formol fixiert. In anderen Versuchen wurde das Eisenchlorid vom Herzen aus eingespritzt. Um die Verschleppung durch Blutung und Druckschwankung auszuschalten, wurde einem Tiere der Kristall erst eingesetzt, nachdem es mit Ringerscher Lösung durchspült war, und nach weiterer $^1/_4$stündiger Durchspülung mit Eisenchlorür nachgespült und vom Herzen aus mit Formol fixiert. Ferner kann man das Gehirn einige Stunden

nach Einführung des Kristalls vom Herzen aus fixieren und dann in Eisenchlorür legen. Der Erfolg aller dieser verschiedenen Maßnahmen ist praktisch der gleiche. Wesentlich ist nur, daß das Eisenchlorür möglichst weit ins Gewebe gebracht wird. Daher darf bei der Zuführung vom Gefäßsysteme aus der Druck nicht zu niedrig sein. Bei sämtlichen Verfahren kommen gute neben ganz mangelhaften Resultaten zur Beobachtung. Auf das histologische Bild ist die verschiedene Methodik ohne Einfluß. Die Zeiten zwischen der Einführung des Kristalls und dem Tode wurden so gewählt, daß der Kristall aufgelöst war. — Häufig zeigen Schnitte, besonders aus der Umgebung der Verletzung, das von Liesegang zuerst bei der Golgi-Färbung erklärte Phänomen der Bänderung. An solchen Stellen sieht man zwiebelschalenartig Zonen starker Färbung mit solchen abwechseln, die wenig oder gar nicht blau imprägniert sind. Solche Bilder, welche die Launenhaftigkeit der Golgi-Methode ebenso wie die der hier angewendeten zum Teile erklären, kommen dadurch zustande, daß Blutlaugensalz und Eisensalz sich infolge von Diffusion entgegenwandern, so daß das Eisensalz bei seinem Vordringen stellenweise kein oder zu wenig Blutlaugensalz zur Bildung von Berlinerblau noch vorfindet. Weiter wird die Methode dadurch unsicher, daß der im Gewebe fixierte Farbstoff im Überschusse von Eisenchlorid sich löst. — Um die Möglichkeit der direkten Färbung mit Berlinerblau festzustellen, wurden zwei Verfahren mit übereinstimmenden Resultaten angewendet. Einmal wurden kleine Scheiben von frischem oder in Formol fixiertem Gehirne nacheinander je eine Stunde in Blutlaugensalz und Chloreisen gelegt, ferner Schnitte in einer Lösung von Berlinerblau und starker Oxalsäure gefärbt. Bei der ersten Methode imprägnierte sich der in Formol nachfixierte Block nur ganz oberflächlich. Die Färbung war bei beiden Verfahren die gleiche wie bei der Verwendung eines basischen Farbstoffes an Material, das in Formol fixiert ist: stärkere Färbung des Zellkernes und Kernkörperchens, geringere des Zellplasmas, diffus verwaschene des Grundgewebes, weiße Substanz kaum gefärbt. Beim Einlegen von Formolgefrierschnitten in gelbes Blutlaugensalz und dann in Eisenchlorid ergab sich ein ähnliches Bild, eine Ganglienzellfärbung, nur daß hier im Gegensatze zur Blockbehandlung die weiße Substanz besonders tiefblau erscheint. Die Rinde und nicht das Mark färbt sich, wenn man nach Unna die reduzierende Eigenschaft des Gewebes benutzt, indem man Stücke oder besser Schnitte in eine Mischung von gleichen Teilen von 1prozentigen Lösungen des roten Blutlaugensalzes und des Eisenchlorids einlegt. Dasselbe Resultat erhält man auch durch Verwendung von Kaliumpermanganat. Auch bei diesen Methoden erhält man ein mangelhaftes Nissl-Bild. Man kann hieraus schließen, daß, wo in einem nach der intravitalen Methode hergestellten Präparate eine wirkliche Färbung des Zellkernes oder des Zellplasmas auftritt, dieses Element als tot oder schwer geschädigt anzusehen ist. Diejenige Darstellungsform, die

hier allein in Betracht kommt, besteht aus einem Belage von blauen Körnern sehr verschiedener Größe, der sich auf nervösen, gliösen und mesodermalen Elementen, aber auch in anderen Strukturen findet.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Gschwind, C., Systematische Untersuchungen über die Veränderungen der Hypophysis in und nach der Gravidität (Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre Bd. **1**, 1914, H. 6, p. 517—545).

Das Organ wurde gewöhnlich in sagittaler Richtung in mehrere Stücke zerlegt und nahe der Medianebene sagittal geschnitten. Horizontale Schnitte ganz selten. Nach Fixierung in Müller-Formol waren die Präparate lange nicht so schön wie nach Alkohol-Formol oder noch besser nach Zenkerscher Flüssigkeit. Die Zelloïdin- bzw. Paraffinschnitte wurden gefärbt in Hämatoxylin-Eosin, Hämalaun-Eosin, nach van Gieson, nach Giemsa, in Kresofuchsin und nach Mallory. Recht schöne Granulafärbungen der basophilen Zellen ergab die Giemsa-Färbung. Die Färbung mit Kresofuchsin sowie nach Mallory lieferte meist kein befriedigendes Resultat. Bei Anwendung von Hämatoxylin-Eosin oder Hämalaun-Eosin ist eine recht intensive Färbung (bis 20 Minuten in Hämatoxylin, nachher rasche Differenzierung in Salzsäurealkohol) vorteilhaft, sonst lassen sich die basophilen Zellen nur schwer unterscheiden. In einigen wenigen Fällen wurden auch mit Sudan III die in manchen eosinophilen Zellen vorkommenden Fettkörnchen nachgewiesen.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Lissauer, M., Über pathologische Veränderungen der Herzganglien bei experimenteller chronischer Alkoholintoxikation und bei Chloroformnarkose (Virchows Arch. Bd. **218**, 1914, H. 3, p. 263—271 m. 3 Figg. im Text).

Die Untersuchungen wurden vorgenommen am Kaninchen, da dieses gegen Alkohol und Chloroform sehr empfindlich ist. Man findet die Ganglienzellen regelmäßig in der Hinterwand der Vorhöfe, in dem zwischen beiden Herzohren gelegenen Abschnitte. Sie liegen hier in dem subperikardialen Fettgewebe im Verlaufe der Nerven, bilden eine größere Anzahl von Ganglienzellenhaufen, und zwar besonders reichlich in den lateralen Abschnitten, also in der Nähe beider Herzohren. Sie finden sich hauptsächlich im Gebiete der hinteren Coronarfurche. Weder in der Muskulatur, noch unter dem Endokard wurden Ganglienzellen gefunden, auch niemals im Gebiete der Ventrikel. — Die Präparate wurden vorsichtig in Formol und Alkohol gehärtet, dann in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden hauptsächlich mit Thionin nach der Methode von von Lenhossék und mit Methylenblau,

mit VAN GIESONscher Lösung und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Das Material wurde lebenswarm konserviert.

Schiefferdecker (Bonn).

Glaser, W., Die Nerven in den Blutgefäßen des Menschen (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1914, Anat. Abteil., H. 4, 5, 6, p. 189—196 m. 6 Figg. im Text).

Wie Verf. in einer früheren Arbeit mitgeteilt hat (Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilkde. Bd. **50**, p. 305), war es ihm gelungen, durch Rongalitweiß in vitaler und supravitaler Anwendung die Nerven in der Gefäßwand verschiedener Tiere darzustellen. Bei menschlichen Präparaten erhielt Verf. damals nur ungenügende Resultate, da das Material nicht frisch genug war. Bei einigen Obduktionen, die $^1/_2$ bis 2 Stunden nach dem Tode ausgeführt wurden, konnten dann noch lebenswarme Blutgefäße von Menschen verschiedenen Alters erhalten und mit Rongalitweiß behandelt werden. Am zweckmäßigsten war das folgende Verfahren: die möglichst bald nach Eintritt des Todes entnommenen Gefäße wurden kurz in warmer physiologischer Kochsalzlösung abgespült und dann in ein zweites Glas mit der gleichen Flüssigkeit eingelegt. Dieser letzteren wurde nachträglich farbloses Rongalitweiß etwa zu 0·25 bis 0·5 Prozent zugesetzt. Diese Lösung färbt sich bald unter fortschreitender Oxydation des Farbstoffes blaßblau bis dunkelblau. Die weitere Behandlung, wie die Fixierung in 5prozentiger wässeriger Lösung von Ammoniummolybdat, erfolgte im wesentlichen nach den Vorschriften von KREIBISCH (Berliner klin. Wochenschr. 1913, No. 12; Prager med. Wochenschr. Bd. **38**, 1913, No. 38; vgl. diese Zeitschr. Bd. **30**, 1913, p. 524—526). Wenn sich auch die zarten Gefäße von Kindern für die Färbung mit Rongalitweiß wegen des leichteren Eindringens des Farbstoffes im allgemeinen besser eignen als die oft derben Arterien und Venen alter Leute, so gelingt es doch, auch bei diesen die Nerven der Blutgefäßwand darzustellen. Untersuchung an Schnitt- und Quetschpräparaten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Biondi, G., Über einige eigentümliche systematische postmortale Veränderungen der Nervenfasern des Rückenmarkes (Neurol. Zentralbl. Jahrg. **34**, 1915, No. 6, p. 178—184 m. 3 Figg. im Text).

Die Arbeit ist experimentell. Ein gesunder, erwachsener Hund wurde durch Blutentziehung getötet. Unmittelbar nach dem Tode des Tieres wurde ein kleines Stück des Rückenmarkes herausgenommen und in MÜLLERscher Flüssigkeit gehärtet. Das übrige Mark wurde in der Lage gelassen. Die Tierleiche verblieb in Zimmerwärme (27 bis 29° C). Nach 24 Stunden wurden ein Stück des Zervikalmarkes und noch ein anderes Stück des Dorsalmarkes herausgenommen, das letz-

tere lag einige Abschnitte näher demjenigen, das am Tage zuvor entnommen war. Auch diese Stücke kamen in MÜLLERsche Flüssigkeit. Die sofort nach dem Tode des Tieres und die nach 24 Stunden entnommenen Stücke wurden in derselben Weise behandelt und denselben technischen Einwirkungen unterworfen. Angewandt wurden die Methoden von MARCHI und die von DONAGGIO mit zinnhaltigem Hämatoxylin für die degenerierten Fasern. Es wurden Querschnitte gefärbt. Die Methode mit „zinnhaltigem Hämatoxylin" ist die erste der drei verschiedenen Methoden, die DONAGGIO 1904 (Riv. sperim. di Freniatria) zur positiven Färbung der Nervenfasern in den Anfangsstadien der primären und sekundären Degeneration vorgeschlagen hat. Die modifizierte Methode, welche DONAGGIO selbst dem Verf. vorschlug, ist die folgende: Die Stücke müssen einige Monate gut in MÜLLERscher Flüssigkeit gehärtet werden. Bei ungenügender Härtung gelingt die Färbung nicht. Im Winter war eine zwei Monate lange Härtung bei Zimmertemperatur noch ungenügend. Die Stücke kommen aus der MÜLLERschen Flüssigkeit sofort vorübergehend in Alkohol und werden in Zelloïdin eingebettet. Die Schnitte von 20 bis 30 μ kommen von Alkohol in Wasser und werden dann gefärbt mit der folgenden Hämatoxylinlösung: In eine vorgeschriebene Menge einer wässerigen, ammoniakalischen 30prozentigen Chlorzinnlösung (KAHLBAUM) gießt man langsam und unter Bewegung eine gleiche Menge einer wässerigen Lösung von 1prozentiger, erwärmter und wieder vollständig erkalteter Hämatoxylinlösung. Diese Lösung hält sich lange Zeit. In derselben bleiben die Schnitte 10 bis 20 Minuten und werden dann nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser differenziert in den Lösungen von PAL, d. h. sie kommen in eine 25prozentige Lösung von Kaliumpermanganat und dann in eine Mischung von gleichen Teilen einer 1prozentigen Lösung von Kaliumsulfit und einer 1prozentigen Lösung von Oxalsäure. Die Schnitte werden abwechselnd so lange von einer Flüssigkeit in die andere gebracht, bis — wenn die Schnitte degenerierte Bündel enthalten — diese schon dem bloßen Auge durch ihre Färbung auffallen. Auswaschen der Schnitte in destilliertem Wasser, Entwässerung in steigendem Alkohol, Aufhellung in Xylol, Einschluß in Balsam. Bei den so behandelten Präparaten sind die normalen Rückenmarksfasern vollkommen farblos oder erscheinen wie einfache Ringe, der Markscheide entsprechend gefärbt. Die veränderten Fasern erscheinen im Querschnitt in toto gefärbt, d. h. sie erscheinen wie abgerundete Häufchen, in denen Achsenzylinder und Markscheiden (wenig oder gar nicht voneinander unterscheidbar) zusammen gefärbt sind. Die normalen Fasern im Längsschnitte widerstehen der Entfärbung, doch unterscheiden sie sich von den veränderten Fasern dadurch, daß die letzteren als unzusammenhängende Reihen von Tröpfchen erscheinen. — Es geht aus den Versuchen hervor, daß die verschiedenen Fasersysteme des Rückenmarkes sich nach dem Tode in verschiedener Weise verhalten. Die bisher zu

solchen Untersuchungen angewendeten Methoden sind nicht so geeignet, wie die hier benutzte Methode von Donaggio.

Schiefferdecker (Bonn).

Wenderowič, E., Der Verlauf der sensiblen, akustischen und mancher anderer Systeme auf Grund eines Falles von Bluterguß in die basalen Hemisphärenabschnitte (Arch. f. Psych. u. Nervenkrankh. Bd. **55**, 1915, H. 2, p. 486—520 m. 4 Tfln.).

Der vorliegende Fall ist, wie Verf. hervorhebt, der zweite, in dem die von ihm angegebene Technik der systematischen Untersuchung menschlicher Hirnhemisphären nach der Methode von Marchi zur Anwendung gelangte. Wie im ersten Falle (Arch. f. Psychiatrie Bd. **52**, H. 1) ermöglichte es die Anwendung dieser Methodik auch hier, eine Reihe wichtiger Beobachtungen zu machen. Verf. macht dabei einige technische Bemerkungen hinsichtlich der Vervollkommnung der von ihm 1911 vorgeschlagenen Methodik (Anat. Anzeiger Bd. **39**, 1911, p. 414—423 m. 3 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 243—248). Als einen wesentlichen Fortschritt betrachtet er das von ihm angewandte Photographieren des bereits makrotomierten Gehirnes, das eine leichte und genaue Registrierung der Ausdehnung der Degeneration in der Rinde der Hirnwindungen schon nach dessen mikroskopischer Untersuchung ermöglichen soll. Früher suchte Verf. das gleiche durch Färben der einzelnen Windungen zu erreichen, doch ergab das nicht den gewünschten Erfolg. An der Hand der photographischen Abbildungen des makrotomierten und aus 0·5 cm dicken Scheiben wieder zusammengefügten Gehirnes ist man jedoch ohne weiteres darüber orientiert, aus welcher Scheibe und welchem Abschnitt derselben (oberen, mittleren, unteren) dieser oder jener Schnitt stammt und kann auf schematischen mit Angabe der Schnittlinien versehenen Zeichnungen der Hirnoberfläche ganz genau und bestimmt alle diejenigen Gebiete notieren, in denen Entartung der Leitungsbahnen festgestellt worden ist. Es ist wünschenswert, sich nicht auf zwei Aufnahmen der Hemisphäre zu beschränken, wie es hier geschehen ist, indem nur deren mediale und laterale Fläche photographiert wurde, sondern eine ganze Reihe von photographischen Aufnahmen anzufertigen, welche die gesamte Rindenoberfläche mit genügender Deutlichkeit veranschaulichen. Auch an der histologischen Bearbeitung des Materials wurden einige Verbesserungen vorgenommen. Was das Trocknen (in Zelloïdin) des aus Scheiben zusammengeklebten Hirnstückes anlangt, so soll man dasselbe nur bis zu dem Tage führen, an dem der Zelloïdinblock sich zu kontrahieren und in seinen Dimensionen zu verkleinern beginnt. Zu diesem Zwecke wird er täglich gemessen und, sowie eine Verminderung der Längenmaße festzustellen ist, in 70prozentigen Alkohol

gebracht. Auf diese Weise wird zunächst verhindert, daß der Block schrumpft und deformiert wird, ferner zeigt er fast gar keine Abweichungen von seinen normalen Dimensionen, was bei etwaiger Ausführung von Messungen im Laufe des weiteren Studiums von Bedeutung sein kann. — Das Auflegen des Schnittes auf die als Objektträger dienende Glasplatte wird unter Alkohol in einer flachen Schale vorgenommen, wie sie gewöhnlich von Photographen benutzt wird: wobei durch Glätten mit dem Handrücken alle zwischen Präparat und Glas sich ansammelnden Luftbläschen unter der Flüssigkeitsoberfläche herausgepreßt werden. So gelingt es sämtliche Luftbläschen zu entfernen, was an der Luft nicht möglich wäre. — Sämtlichen Konservierungsmitteln, auch dem flüssigen Paraffin (Paraffinum liquidum) zieht Verf. entschieden den nach Vorschrift von Prof. Wallenberg hergestellten „Sandarak-Lack" vor. Das Präparat erhält sich in ihm bedeutend länger als in allen anderen Medien. Außerdem gestattet er, da er kein Deckglas erfordert, die Benutzung starker Vergrößerung, was bei der Untersuchung oft nötig ist. Der Lack darf nur auf die zentralen Partien des Schnittes, nicht auf die peripheren gegossen werden, da er sonst stark auseinander fließt und das Präparat trotz späteren häufigeren Zugießens entblößt wird und stellenweise eintrocknet. — Was die Zeichnungen anlangt, so wird der Schnitt mit durchsichtigem Papier (Kalkpapier) bedeckt und mit allen seinen Details, auch denjenigen, die nur auf mikroskopischem Wege notiert werden können, auf dasselbe übertragen. Das Notieren dieser Details geschieht so, daß bei Betrachtung des Präparates unter dem Mikroskope mittels einer unter das Objektiv geführten Feder auf die Oberfläche des Präparates Tintenpunkte gemacht werden, welche die Grenzen der degenerierten Partien und aller anderen pathologischen und normalen Details kennzeichnen sollen. Diese Punkte werden ebenfalls auf das durchsichtige Papier übertragen. Weiter wird die so gewonnene Zeichnung auf gewöhnliche Weise mittels Pauspapiers auf Wattmannsches Papier übertragen und zum Schlusse werden alle Konturen mit Tusche überzogen.

Schiefferdecker (Bonn).

Terni, T., Condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibii (Arch. f. Zellforsch. Bd. **12**, 1914, p. 1—96 m. 7 Tfln.).

Zur Untersuchung dienten die Hoden von Geotriton fuscus und es stellte sich im Laufe derselben immer mehr heraus, daß das gewählte Material sich ganz hervorragend für den gegebenen Zweck eignete. Ausgiebig wurde zunächst Gebrauch gemacht von der Untersuchung des frischen Hodenparenchyms in einer 0·9prozentigen Kochsalzlösung, in der sich die Elemente ohne jede mechanische Manipulation in vollkommenster Weise isolierten. Zur Fixierung des Gewebes eignete sich am besten die Bendasche Modifikation der Flemmingschen

Flüssigkeit, und das von MAXIMOW empfohlene Gemisch mit Osmiumsäure. Die Bleichung der Schnitte behufs besserer Färbbarkeit geschah nach dem Vorschlage von RUBASCHKIN mittels der PALschen Methode (kurze Behandlung erst mit 0·25prozentiger Kaliumpermanganatlösung, dann nach Abspülen in Wasser mit einem Gemisch aus gleichen Teilen 0·5prozentiger Oxalsäurelösung und 0·5prozentiger Lösung von Kalium sulfurosum, worauf nach gutem Auswaschen die Färbung erfolgt). Zur Tinktion wurde neben der etwas unsicheren BENDAschen Methode hauptsächlich und mit dem besten Erfolge das HEIDENHAINsche Eisenhämatoxylin benutzt, das auch nach Fixierung mit CARNOYS Gemisch brauchbare Bilder gab. Übrigens gelang die Darstellung der Chondriosomen auch bei progressiver Färbung mit Malachitgrün und Säurefuchsin nach PIANESE.

E. Schoebel (Neapel).

Legendre, R., Dispositif pour l'examen microscopique des nerfs vivants ayant leurs connexions anatomiques intactes et leur fonctionnement normal (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 10, p. 432—434 av. 1 fig.).

Die Untersuchung eines Nerven mit den gewöhnlichen histologischen Methoden erlaubt nur die groben Veränderungen desselben zu studieren, so die Degeneration nach Ausreißung oder Durchschneidung. Die leichteren Veränderungen, die nach vorübergehenden physiologischen Veränderungen eintreten, können so nicht untersucht werden. Zerzupft man den Nerven frisch in einer geeigneten Flüssigkeit, so läßt er wohl feinere Veränderungen erkennen, doch ist er selbst durch die mit dem Herausnehmen verknüpften starken Eingriffe stark verändert und kann auch nur kurze Zeit beobachtet werden. Verf. hat jetzt eine Methode gefunden, bei der man die Nerven mit den stärksten Vergrößerungen untersuchen kann, ohne sie im geringsten zu verändern, sie bleiben anatomisch intakt und funktionieren normal. Methode: Bei einem Frosche wird die Haut eines Hinterbeines gegen die Mitte des Unterschenkels hin in gleicher Entfernung vom Knie und vom Fuße ringförmig umschnitten. Dann wird je ein kurzer Längsschnitt nach oben und unten von dem Ringschnitte gemacht, die beiden Hautstücke werden zurückgeschlagen, das eine bis zum Knie, das andere bis zum Fuße, so ist der Unterschenkel jetzt freigelegt. Hier verlaufen drei lange und feine Nerven: 1) Der Ramus cutaneus des Cruralis posterior, der am leichtesten zu präparieren ist, aber am ungünstigsten ist für mikroskopische Beobachtung und starke Vergrößerungen. Er liegt der lateralen inneren Seite des Gastrocnemius an. Durchschneidet man die Achillessehne, ohne den Nerven zu berühren, so kann man den Gastrocnemius bis zum Knie abheben und isolieren, ohne daß der Hautnerv irgendwie beschädigt

wird. Leider ist dieser Nerv aber begleitet von Blutgefäßen und zahlreichen Pigmentzellen, wodurch die Beobachtung seiner Fasern erschwert wird. 2) Der Peronaeus, der sich von dem Ischiadicus etwas oberhalb des Knies abzweigt, bleibt ungeteilt bis zur Mitte des Unterschenkels, wo er einen feinen Ast in die Muskeln entsendet, den man abschneiden muß, und bildet dann zwei Äste, den Peronaeus medialis und den lateralis, die bis zum Fuße weiter verlaufen. Dieser Nerv und besonders seine Äste sind für die mikroskopische Untersuchung günstig. 3) Der Tibialis, der den zweiten Ast des Ischiadicus bildet, schickt verschiedene Äste nach dem Knie hin, unter diesen den Ramus cutaneus des Cruralis posterior, und verbleibt dann bis zum Fuße ungeteilt. Man kann leicht über eine große Strecke hin, ohne sie zu zerren, den Peronaeus und den Tibialis mit Hilfe einer feinen Knochenspitze von den anliegenden Geweben trennen. Dann durchschneidet man den Unterschenkel mit Ausnahme des Nerven an zwei Stellen: möglichst nahe am Knie und an der Ferse, und erhält so ein Nervenpräparat, das an seiner alten Stelle liegt, mit seinen Zentren und Endigungen verbunden ist, als einzige Verbindung zwischen dem Fuße und dem übrigen Körper. Man hat sich nun vorher eine Korkplatte zurechtgemacht, die so dünn ist, daß der Abstand des Objektives von dem Kondensor nur gering ist und noch die Anwendung von starken Vergrößerungen erlaubt. Diese Korkplatte erhält ein quadratisches Fenster von 26 mm Seite an dem einen Rande, in welches ein Glasplättchen eingefügt wird. Der Frosch wird auf die Korkplatte gelegt, so daß der Körper auf der einen Seite des Fensters, der Fuß auf der anderen liegt, und der Nerv quer über das Glasplättchen läuft. Die ganze Manipulation muß schnell gehen, um ein Austrocknen des Nerven zu verhindern, man kann zu diesem Zwecke auch etwas Ringersche Flüssigkeit darübergießen. Das von dem Verf. vor kurzem beschriebene Deckglas mit umgebogenen Ecken wird über den Nerven auf das Glasplättchen gelegt und bedeckt so den Nerven, ohne ihn zu drücken. Über die beiden Seiten des Deckgläschens werden Hautlappen herübergelegt, um die Austrocknung der beiden Enden des Nerven, die nicht von dem Glase bedeckt sind, zu verhindern. Jetzt ist das Präparat fertig, es kann so unter das Mikroskop gebracht werden und man kann alle Objektive, selbst homogene Immersion verwenden. Das Deckgläschen mit umgekrümmten Enden erlaubt die Zirkulation einer bestimmten Flüssigkeit um den Nerven während der Untersuchung. Zu diesem Zwecke legt man auf die eine Seite des Deckgläschens ein Stück Fließpapier und tropft auf die andere die Flüssigkeit, deren Einwirkung untersucht werden soll. Man kann hierbei den Nerven auch elektrisch reizen. Zu diesem Zwecke kann man die Elektroden auf den Ischiadicus oder seine Lumbalwurzeln aufsetzen, so daß die Beobachtung in keiner Weise gehindert wird, und in dem Nerven die Veränderungen beobachten, die infolge des Durchströmens im Nerven auf-

treten. Der so präparierte Nerv behält länger als bei irgendeiner anderen Präparationsweise seine normale Erregbarkeit und sein normales Aussehen. Die Imbibition durch die Ringersche Flüssigkeit wird dadurch verzögert, daß der Nerv keine Schnittfläche darbietet und sich unter strikt physiologischen Bedingungen befindet.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Lengerken, H. v., Die Kolbenzellen von Anguilla und Petromyzon (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde z. Berlin 1913, p. 391—441 m. 17 Figg. u. 4 Tfln.).

Zur Fixierung diente hauptsächlich das schwache Flemmingsche Gemisch bei einer 12stündigen Einwirkung und die Zimmersche Lösung nach Deegener bestehend aus 10 Teilen wässeriger Lösung von Pikrinsäure, 9 Teilen absolutem Alkohol und 1 Teil Essigsäure. Gefärbt wurde unter anderem meist mit Grenachers Hämatoxylin und Heidenhains Eisenhämatoxylin. Außerdem kam noch die rasche Golgische Methode zur Anwendung. *E. Schoebel* (*Neapel*).

C. *Mikroorganismen.*

Galli-Valerio, B., La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 2, 3, p. 233—234).

Verf. macht auf die von Casares-Gil in der Revista de sanidad militar beschriebene, aber bisher ziemlich unbekannt gebliebene Methode der Geißelfärbung aufmerksam.

In 30 cc Alkohol (70 Prozent) löst man in einem Mörser 10 g Tannin und 18 g Chlor-Aluminium (wasserhaltig). Zu der Lösung gibt man tropfenweise eine Lösung von 10 g Chlorzink in 10 g Wasser und $1^1/_2$ g Rosanilinchlorhydrat. Um zu färben, verdünnt man im Reagenzglas einen Teil der Stammlösung mit vier Teilen Wasser, schüttelt, läßt etwa 1 Minute absetzen und filtriert. Auf den Ausstrich überträgt man einige Tropfen des Filtrats oder läßt diese noch besser direkt vom Filter auf das Präparat gelangen und läßt die Farblösung etwa 1 Minute einwirken, bis sich ein metallisch glänzendes Häutchen an ihrer Oberfläche bildet. Dann wäscht man die Präparate mit reichlich Wasser; die Geißeln sind nunmehr gefärbt, die Bakterien färbt man durch nachfolgende Anwendung von Karbolfuchsin oder Methylenblau.

Verf. rühmt die guten Resultate, die die neue Methode auch in den Händen Ungeübter liefert (Vibrio cholerae, Bacillus typhi, B. proteus, B. subtilis, u. a.). Verf. rät, die Präparate nach der Geißelfärbung

unter dem weitgeöffneten Hahn einer Wasserleitung zu waschen, damit keine Niederschläge entstehen. — Die Stammlösung hielt sich bis jetzt 1/2 Monate im Laboratorium des Verf. *Küster (Bonn).*

Knack, A. V., Die Untersuchung im künstlichen Dunkelfeld (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 2, 3, p. 235—236).

Verf. sucht nach einer Methode, welche gestattet, Bakterien und andere ähnliche Objekte vital in ähnlicher Weise sichtbar zu machen, wie es Burris Tuschemethode für eingetrocknete Mikroorganismen gestattet. Tusche sowohl als auch die von Nitsche empfohlene Kollargollösung erschweren durch die Molekularbewegung ihrer Teilchen die Sichtbarmachung der Objekte allzusehr. Befriedigende Resultate erzielte Verf. mit Nigrosin B „wasserlöslich" (Grübler).

In einer Schottmüller-Flasche wird eine reichliche Menge des Farbstoffes (etwa 5 g auf 30 cc) mit steriler physiologischer Kochsalzlösung 10 Minuten lang geschüttelt. Die Lösung kommt auf 3 Tage in den Brutschrank (37°) und wird dann — ohne vorherige Schüttelung — durch Asbest oder Liliputfilterkerzen filtriert. Die Filtration geschieht in der Weise, daß man die gut gestopften Filter zunächst mit Äther, dann mit Alkohol und destilliertem Wasser durchsaugt und gegen ein Vakuum filtriert. Die filtrierte Lösung wird in gut gereinigten Röhrchen dreimal je eine 1/2 Stunde stark zentrifugiert und die obere Hälfte der Flüssigkeit zum Gebrauch abgehoben. Mit einer Öse Farblösung wird auf dem Objektträger eine Öse des Materials gemischt; durch Druck auf das Deckglas wird die Flüssigkeit in dünnster Schicht ausgebreitet. „In den Präparaten sieht man dann die subtilsten Objekte; ich erwähne noch einmal das Beispiel der Blutstäubchen und Blutfäden, in gleicher Zahl wie im Dunkelfeld in Eigenform, Eigenfarbe und Eigenbewegung im dunkleren Medium suspendiert. Sehr schöne Bilder erhält man auch, wenn man gröbere Objekte mit dieser Methode untersucht, so Bakterien (Streptokokken, agglutinierte Typhusbazillen), Spirochäten (Initialsklerose, Plaut-Vincentsche Angina), Amöben (im Stuhl), Plasmodien (im Blut), Blutplättchen u. dgl. m." — Zu Trockenausstrichen läßt sich die Farblösung ebensogut verwenden wie Tusche oder Kollargol.

Küster (Bonn).

Saphier, J., Über die Herstellung der haltbaren Kollargolpräparate von Spirochäten und Hyphomyceten (Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 27, 1914, No. 33, p. 1214—1215).

Im Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. 63, H. 7, hat P. Nitsche eine besonders brauchbare Methode angegeben zur „Verwendung kolloidaler Metalle an Stelle der Tusche bei Burri-Präparaten". Dieser Methode

haftet aber der Nachteil an, daß die Kollargolpräparate nicht lange haltbar sind, nach 3 bis 4 Wochen blassen sie ab, hauptsächlich an den Stellen, welche mit Zedernholzöl in Berührung gekommen sind, so daß manchmal wertvolle Präparate verloren gehen. Durch seine Versuche glaubt nun Verf. gefunden zu haben, daß man durch Anwendung des Fixiernatrons haltbare Kollargolpräparate herstellen kann. Methode: das lufttrockene Ausstrichpräparat wird beschickt mit Kollargollösung, der Objektträger wird dann (nach 2 bis 3 Minuten senkrecht aufgestellt und an der Luft getrocknet. Auf diese Weise ist das Präparat nach Nitsches Angabe gebrauchsfähig. Zwecks Verlängerung der Haltbarkeit der Präparate wurden dieselben mit einer 2prozentigen Lösung von Fixiernatron behandelt. Das Kollargolpräparat bleibt 24 Stunden oder noch besser 2 bis 3 Tage liegen. Durch das Licht wird es nicht verändert. Nachher kommt es ganz kurz in die 2prozentige Lösung von Fixiernatron, wird dann in Leitungswasser abgespült und getrocknet. Das vorher braune Präparat erscheint jetzt tief stahlgrau, glänzend. Hierzu eignen sich am besten 1- bis 2prozentige Kollargollösungen. Die Bilder sind sehr schön, das Präparat ist unbedingt haltbar. *Schiefferdecker (Bonn).*

D. Botanisches.

Plaut, M., Mit Fettfarbstoffen gefärbte Terpentinkitte, sowie über die Verwendung von Gelbglyzerin als Holz- und Korkreagens (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 3, p. 133).

Gutes Deckglaskittmaterial erhält man durch Eindickung des im Handel befindlichen rektifizierten venezianischen Terpentins[1] auf dem Sandbad; es entsteht ein gleichmäßiger, dunkelgelber, stark lichtbrechender, nicht spröder, durchsichtiger Kitt. Auch „künstlicher“ venezianischer Terpentin ist für viele Zwecke benutzbar. Er ist erheblich billiger als der erste, besteht aber aus schlechteren Terpentinsorten und öfters aus nicht reinem Lärchenterpentin. Nach Hirschsohn unterscheidet sich Lärchenterpentin von gewöhnlichem Terpentin durch sein Verhalten gegenüber Ammoniak. Liegt Lärchenterpentin vor, so tritt nach Zusatz des fünffachen Volumens Ammoniak keine Trübung ein. Lärchenterpentin ist sehr klar und kristallfrei, während der Terpentin der Kiefer unter dem Mikroskop viele Kristalle der Abietinsäure erkennen läßt. Eben in der sehr geringen Neigung des Lärchenterpentins zum Kristallisieren liegt nach Verf. sein Wert bei der Verwendung für Präparatenherstellung. —

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 30, 1913, p. 476.

Verf. verwendet venezianischen Terpentin — gefärbten und ungefärbten — zu verschiedenen Zwecken.

Für die Zwecke der vergleichenden Samenuntersuchung zieht es Verf. der üblichen Verwahrung der Samen in Röhrchen vor, einzelne Samen auf Objektträgern aufzukleben. Dabei empfiehlt es sich, schwarzen Terpentin zu verwenden, da sich die Früchte der Gräser und ähnlicher Objekte von schwarzem Grund besser abheben.

Zusatz von Ruß macht den Terpentin glänzend schwarz, vermindert aber die Klebekraft.

Fettreagenzien eignen sich gut zur Färbung des Terpentins. Verf. bediente sich des Sudan III, das in Kristallform dem Terpentin zugesetzt werden kann. Roten Kitt liefert ferner die Verwendung von Scharlachrot. Brauchbaren schwarzen Kitt erhielt Verf. mit Nigrosin „fettlöslich". Zum Blaufärben dient Indophenol, zum Gelbfärben Dimethylamidoazobenzol. Grünen Kitt erhält man durch Mischung des blauen und des gelben; Kupferazetat gibt keine taugliche Grünfärbung. Verschiedene farbige Kitte werden von Grübler hergestellt. Verf. bedient sich ihrer zum Umranden der Präparate, so daß verschiedene Serien von diesen an der Farbe leicht kenntlich werden, zum Ankleben der Korktäfelchen für Insektensammlungen usw.

Dimethylamidoazobenzol (Buttergelb) läßt sich als Gelbglyzerin vorteilhaft als Holz- und Korkreagens verwenden[1]. Setzt man zu Gelbglyzerin Salz- oder Essigsäure bis zur Rotfärbung und gibt Chloroform hinzu, so sieht man in diesem die Base mit gelber Farbe sich lösen; über dem Chloroform bleibt die rote Lösung des Salzes sichtbar. Das salzsaure Salz des Buttergelbs ist ein Holzfarbstoff, die freie Base ein Korkfarbstoff. Der Reagenzglasversuch erklärt es, daß man mit einer ganz schwach sauren Lösung das Holz rot färben kann, während Suberin und die kutinisierten Membranen ebenso wie das Chloroform die Farbe der freien Base aufweisen.

Die metakutisierten Zellen in den Nadeln von Tsuga canadensis bringt Verf. nach Vorbehandlung der Schnitte mit Eau de Javelle in ganz schwach angesäuertes Wasser (HCl) und aus diesem in Gelbglyzerin, in dem man auch einschließt. Kutikula und metakutisierte Membranen färben sich gelb, die Membranen der Gefäße rot. Umgekehrter Farbeffekt wird durch Doppelfärbung mit Sudanglyzerin und Anilinsulfat erzielt. Für Färbung mit Sudanglyzerin ist Erwärmung der Schnitte vorteilhaft, Indophenol färbt schon in der Kälte die verkorkten Membranen kräftig und macht oft Vorbehandlung mit Eau de Javelle überflüssig. Ganz schwach werden von Indophenol nach einiger Zeit auch die verholzten Membranen gefärbt; doch gelingt es leicht, verholzte und kutinisierte Anteile zu unterscheiden, indem

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 30, 1913, p. 137.

man die Schnitte erst mit Anilinsulfat färbt. Alsdann erscheinen die verholzten Teile gelb, die verkorkten blau. — Nigrosin „fettlöslich" gab schlechte Korkfärbungen. *Küster* (*Bonn*).

Wasicky, R., Zur Mikrochemie der Oxymethylanthrachinone und über ein Anthraglykoside spaltendes Enzym im Rhabarber (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 1, p. 37).

In Rheum findet Verf. mindestens zwei Enzyme, ein Oxydation bewirkendes und die Anthraglykosidase, welche Anthraglykoside spaltet. Dasselbe Enzym fand Verf. in Canaigre-Material (Wurzelknollen von Rumex hymenosepalus). Die Anthrachinone, die bei der Spaltung entstehen, werden bei Behandlung mit Glyzerin als Kristalle sichtbar. Verf. bediente sich bei Untersuchung seiner Objekte des Reichertschen Fluoreszenzmikroskopes. Schnitte von Rheum wurden in einer Lösung von Borax in konzentriertem Glyzerin (1 : 10) untersucht; von jeder oxymethylanthrachinonhaltigen Zelle sieht man unter dem Fluoreszenzmikroskop einen grünen Schleier ausgehen, der den in Lösung gehenden Oxymethylanthrachinonglykosiden entspricht. Rheumemodin hingegen und Mercksches Rheïn sind in kaltem Boraxglyzerin unlöslich; im Fluoreszenzmikroskop erscheinen die Kristalle rotgelb oder gelb; grünliche Schleier fehlen. Erst bei Erhitzung erfolgt geringe Lösung und gleichzeitig mit ihr Schleierbildung. Behandelt man die Rheumpräparate zuvor mit Anthraglykosidase, so zeigen sie im Fluoreszenzmikroskop zwar rote, gelbe Kristalle, aber keine Schleier mehr — die Glykoside sind also vollkommen gespalten worden. *Küster* (*Bonn*).

Lundqvist, G., Die Embryosackentwicklung von Pedicularis sceptrum carolinum L. (Zeitschr. f. Botan. Bd. 7, 1915, H. 9, p. 545).

Zur Fixierung dienten Zenkers Kaliumbichromat-Sublimat-Essigsäure, Carnoys Alkohol-Chloroform-Essigsäure und Flemmings Chrom-Osmiumsäure. Gefärbt wurde mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und Lichtgrün — mit letzterem die Membranen. *Küster* (*Bonn*).

Ruhland, W., Untersuchungen über die Hautdrüsen der Plumbaginaceen. Ein Beitrag zur Biologie der Halophyten (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. **55**, 1915, H. 3, p. 409—498).

Für die Messung der molaren Konzentration sehr kleiner Flüssigkeitsmengen empfiehlt Verf. die Bargersche Methode[1]; sie beruht auf der Erscheinung der molekularen Dampfdruckerniedrigung der

[1]) Transact. Chem. soc. vol. 85, 1906, p. 287.

Lösungen. Verf. verfährt in der Weise, daß das von ihm geprüfte „Sekret in Kapillaren aufgefangen und durch Luftblasen unterbrochen, abwechselnd mit Lösungen von bekanntem molarem Gehalt in Nachbarschaft gebracht wird. Verschließt man dann die Kapillaren luft- und wasserdicht und bringt sie in Wasser zur Bewahrung einer möglichst gleichmäßigen Temperatur, so bewegt sich der Dampf von Orten größerer zu solchen geringerer Tension, was mikrometrisch verfolgt werden muß. Es ist so möglich, indem man verschiedene Vergleichslösungen der Reihe nach verwendet, die gesuchte molare Konzentration selbst für nicht dissoziierende Stoffe bequem bis zu einer Genauigkeit von 0·01 GM pro Liter festzustellen." *Küster* (*Bonn*).

Posner, C., Studien zur Mikroskopie von Mehl und Brot (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. **29**, 1915, H. 8, p. 329).

Verf. empfiehlt als Färbemittel Löfflers Methylenblau und Giemsa-Lösung, ferner Methyl- und Gentianaviolett. „Seitens des Instituts für Getreideverarbeitung wird eine (wohl Kongorot enthaltende) Flüssigkeit ‚Schwarz-weiß-rot' empfohlen, bei deren Anwendung die Roggenkörner schwärzlich, die Kartoffelstärke weiß, die Kleisterzellen rosa bis rot erscheinen — ein eigenartiges Verhalten, welches ich bestätigen kann. Schütz und Wein geben dem Thionin den Vorzug (in 30prozentiger wässeriger Lösung), welches in der Tat besonders scharf zu differenzieren scheint. Ich nehme diese Färbungen am fein verteilten feuchten Präparat vor und wasche durch Zusatz von etwas destilliertem Wasser unter dem Deckglas aus: andere Autoren färben, wie das schon Vogl angab, Trockenpräparate. Mir scheint, daß bei diesem Verfahren die Stärkekörner nicht so deutlich bleiben und etwas von ihrem charakteristischen Bilde einbüßen und namentlich, daß die Proteïne nicht so gut konserviert werden."

Küster (*Bonn*).

Bengen, F., Über die mikroskopische Untersuchung von Mehl und Backwaren, insbesondere über den Nachweis von Kartoffelbestandteilen (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. **29**, 1915, H. 6, p. 247).

Die Methoden des Verf. benutzen die Erkenntnis, daß Kartoffelstärke im Gegensatz zu der Roggen- und Weizenstärke sich leicht mit Löfflerschem Methylenblau färben läßt.

Bei der Untersuchung von Brot auf Gewebepartikel verfährt Verf. in der Weise, daß er Brot in NaOH verquellen läßt. Die nach Griebel notwendige starke Verdünnung wird überflüssig, wenn man das Material mit Bromwasser behandelt. Es gelingt auf diesem Wege 5 g Brot bereits in 100 cc dünnflüssig aufzulösen und die Gewebselemente durch Sedimentierung zu gewinnen. *Küster* (*Bonn*).

Potonié, R., Über die Diathermie einiger Carbon-„Farne" (Beih. z. botan. Zentralbl. Abt. 1, Bd. **32**, 1915, H. 3, p. 468).

Inkohlte Pflanzenreste, deren Aufhellung zum Zweck der mikroskopischen Untersuchung mit Eau de Javelle nicht hinreichend weit sich fördern läßt, pflegt man mit Schulzeschem Mazerationsgemisch zu behandeln. Neben diesem verwendete Verf. auch Wasserstoffsuperoxyd als Mazerationsmittel; es ist für diejenigen Fälle zu empfehlen, in welchen das die inkohlten Pflanzenreste umgebende Gestein von Säuren zu stark angegriffen wird und daher beim Zerfallen die Pflanzenteile zerreißt. *Küster (Bonn).*

Gothan, Neue Erfolge der Mazerationsmethode in der Paläobotanik (Zeitschr. d. d. geol. Ges. Bd. **67**, 1915, H. 1, 2, p. 1).

Übersicht über die bisher angewandten Mazerationsmethoden und ihre Erfolge beim Isolieren kutinisierter Gewebeanteile (Epidermiszellen, Pollenkörner, Sporen). Mazeration gibt selbst bei Verarbeitung der an der Schieferunterlage anhaftenden Pflanzenteile noch befriedigende Resultate. *Küster (Bonn).*

Nathorst, A. G., Paläobotanische Mitteilungen. XI. Zur Kenntnis der Cycadocephalusblüte (Kongl. Svenska Vetensk. Handl. Bd. **48**, 1911, No. 2).

Um Synangien von Cycadocephalus Sewardi durchsichtig und ihren Sporeninhalt und die Sporenanordnung sichtbar zu machen, verfuhr Verf. in der Weise, daß er die Synangien kurze Zeit mit chlorsaurem Kali und Salpetersäure und hierauf mit schwacher Lösung von Ammoniak so lange behandelte, bis die Huminsäure entfernt worden war. „Dann wurde wieder mit Salpetersäure und chlorsaurem Kali begonnen u. s. f., und diese Behandlung wurde so lange wiederholt, bis ein befriedigendes Resultat gewonnen wurde. Theoretisch mußte die Synangiumwand auf solche Art sozusagen abgeschält werden können, bis die Oberfläche der Sporenhäufchen bloßgelegt war; in Wirklichkeit verhält es sich aber etwas anders, und zwar weil die Synangien, infolge der Zusammenpressung, des Vorkommens von Spalten usw., nicht über ihre ganze Fläche hin gleichförmige Angriffspunkte darbieten. Die Einwirkung der Reagenzien schreitet daher nicht gleichmäßig fort, und man muß zufrieden sein, wenn man die gewünschten Resultate wenigstens stellenweise notieren kann."

Küster (Bonn).

Lindner, Joh., Über den Einfluß günstiger Temperaturen auf gefrorene Schimmelpilze [Zur Kenntnis der Kälteresistenz von Aspergillus niger] (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **55**, 1915, H. 1, p. 1).

Wie BARTETZKO (1910) beurteilte Verf. die Vitalität der von ihm niedrigen Temperaturen ausgesetzten Myzelanteile nach der Plasmolysierbarkeit der Zellen und der Färbbarkeit ihres Inhalts mit Anilinblau (Lösung 1 : 1000 in der Nährlösung): tote Protoplasten färben sich, lebende bleiben ungefärbt. *Küster (Bonn).*

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Weinschenk, E., Die gesteinsbildenden Mineralien. 3. Aufl., 262 pp. m. 309 Textfigg., 5 Tfln. u. 22 Tab. Freiburg i. B. (Herdersche Verlagshandlung) 1915. Geb. 10·80 M.

Wie auch in der Lehre von den gesteinbildenden Mineralien die mikroskopische Erforschung immer noch größere Bedeutung erlangt. zeigt sich in einem Vergleich der vorliegenden Auflage dieses wertvollen Buches mit den vorhergehenden. Der Verf. ist hier fast ausschließlich Morphologe. Die Entstehung der Mineralien berührt er kaum; ebensowenig ihre chemische Zusammensetzung. Die Formeln können allerdings in den sehr übersichtlichen Tabellen nachgesehen werden. Dafür ist das Gestaltliche besonders eingehend dargestellt. Wenn die allerfeinsten Strukturen, welche sich durch die Lauegraphie (Feststellung des Kristallgitters durch Röntgenstrahlung) enthüllten, noch fehlen, so hängt das damit zusammen, daß diese vorläufig für den Petrographen noch kaum in Betracht kommen.

Trotz ihrer Kürze werden den Leser dieser Zeitschrift auch die Bemerkungen über die Färbemethoden der Gesteinsdünnschliffe interessieren. Groß ist ja leider deren Anwendbarkeit noch nicht, und manche Verwechslungen sind möglich. So z. B. von einigen anderen Mineralien mit Nephelin, den man schon häufig sogar quantitativ in den Basalten nach der Färbemethode zu bestimmen versuchte.

Die Übersichtlichkeit, die Klarheit der Darstellung und die Vorzüglichkeit der Ausstattung veranlassen eine besondere Empfehlung auch dieser Auflage. *Liesegang (Frankfurt a. M.).*

Mlodziejowski, A., Beobachtungen über fließende Kristalle des Ammoniumoleats (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **52**, 1913, p. 1—10 m. 1 Tfl.).

Zu seinen Beobachtungen stellte Verf. fließende Kristalle des Ammoniumoleats her durch Verdampfen einer wasserhaltigen, alkoholischen Lösung des Salzes bei Zimmertemperatur. Wird ein Tropfen der Lösung auf einen Objektträger ohne Deckglas gebracht, so sieht man im Mikroskop bald das Entstehen der fließenden Kristalle, von denen einige die Gestalt runder oder zerflossener Tropfen zeigen. die Mehrzahl aber die von LEHMANN schon beschriebenen verlängerten

Rotationskörper („Puppen“) darstellen. Während die puppenartigen Gebilde merkliche Doppelbrechung haben, bleiben die tropfenartigen Kristalle zwischen gekreuzten Nicols dunkel; ihre Doppelbrechung kommt aber beim Neigen des Präparates auf drehbarem Objekttisch zum Vorschein, ihre Isotripieachse ist also der Achse des Mikroskopes parallel gerichtet. Die auf diese Weise hergestellten fließenden Kristalle des Ammoniumoleats besitzen große Beständigkeit und befinden sich lange Zeit neben den festen Kristallen des Ammoniumoleats. Daraus schließt Verf., daß der Bildungsprozeß der fließenden Kristalle aus der Lösung und der Erstarrungsprozeß dieser Kristalle vollkommen isotherm sind. Enthält die Lösung einen Überschuß von Ammoniumoleat, so kann man sehen, daß feste Kristalle im Präparat schwimmen, bevor die fließenden Kristalle sich zu bilden anfangen. Die festen Kristalle sind außerordentlich weich und plastisch; durch Zerdrücken solcher Kristalle zwischen zwei Objektträgern erhält man zwischen gekreuzten Nicols das Bild einer lamellaren Struktur, entstanden durch Schiebungen längs der Gleitflächen. Verf. schließt daraus, daß die Plastizität der festen Kristalle des Ammoniumoleats sich durch Schiebungen längs der Gleitflächen erklären läßt und nicht mit einer Zerstörung des Raumgitters verbunden ist. Betreffs der Symmetrie der fließenden Kristalle beobachtete Verf. solche mit Symmetrieachsen 10. und 14. Ordnung; er folgert daraus, daß die Symmetrie der fließenden Kristalle nichts Gemeinsames mit der Symmetrie der festen Kristalle hat.

Bei einem auf dem Objektträger liegenden Tropfen alkoholischer Lösung des Ammoniumoleats erscheinen zuerst stürmische Strömungen und Wirbel, die sich an den schwimmenden, festen Kristallen des Ammoniumoleats erkennen lassen. In kleinen Teichen und Golfen am Rande des Tropfens bilden sich dann die fließenden Kristalle: ihre Bildungsweise erinnert sehr an die freiwillige Emulsionsbildung aus einem Öltropfen. Am Rande des Teiches erfolgt ein Zusammenfließen der Kristalle mit der den Teich umgebenden Flüssigkeit. Mit dem Wachsen und der Vermehrung der fließenden Kristalle wächst ihre Doppelbrechung; sie werden größer, indem sie zusammenfließen. Der Brechungsindex der Puppen und Tropfen ist größer als der der umgebenden Flüssigkeit, da die fließenden Kristalle reelle Bilder von Gegenständen erzeugen, die unmittelbar vor das Präparat in den Strahlengang gebracht werden.

Das Präparat bedeckt sich allmählich mit einer dünnen, festen, durchsichtigen Haut, ebenso scheinen die Tropfen und Puppen sich mit einer Haut zu umgeben. Allmählich verschwinden die Puppen: einige wandeln sich zu runden Tropfen mit undeutlichem Rande um, die größere Brennweite als die Puppen besitzen; die meisten Puppen aber werden zu runden Tropfen mit radialer Struktur (Sphärolithen). Die Sphärolithen erscheinen in Teichen mit scharf ausgesprochenen Rändern: die Ränder erscheinen zwischen gekreuzten Nicols hell.

die Teiche selbst und die umgebende Flüssigkeit dunkel. Beim Neigen des Objekttisches tritt Aufhellung der die Teiche umgebenden Flüssigkeit ein, während die Teiche dunkel bleiben. Allmählich wächst die Doppelbrechung in einem Sphärolithtropfen an, erkennbar an dem Steigen der Interferenzfarben höherer Ordnung, während die Größe des Tropfens unveränderlich bleibt.

Aus der Zähigkeit und den Brechungsverhältnissen der fließenden Kristalle des Ammoniumoleats, und nicht zuletzt aus ihrer Bildung, schließt Verf., daß es sich hier überhaupt nicht um fließende Kristalle handelt, sondern um Öltropfen, die im Wasser schwimmen; ihre Doppelbrechung erhalten die Puppen durch festes, in ihnen eingeschlossenes Ammoniumoleat. Bei der Verwandlung der Puppen in Sphärolithen erfolgt radiale Anordnung der kristallinen Elemente. Die festen Kristalle des Ammoniumoleats füllen nicht den ganzen Inhalt des Tropfens aus; damit im Einklang steht, daß die Doppelbrechung der Sphärolithen ohne Vergrößerung wächst.

Die Entstehung der Ölsäure erklärt Verf. durch hydrolytische Spaltung des Ammoniumoleats; daher erscheinen die fließenden Kristalle an den wasserreichen Stellen des Präparates. Eine Zugabe von Wasser zu dem Präparat begünstigt die Entstehung der fließenden Kristalle sowie die der Myelinformen. Bei Abwesenheit von Wasser bilden sich bei der Verdunstung keine fließenden Kristalle; eine kaum bemerkbare Emulsion und die Bildung sehr weniger Sphärolithen dabei führt Verf. auf im Präparat zurückgebliebene freie Ölsäure zurück. Daß man puppenartige, fließende Kristalle durch Erkalten einer alkoholischen, bei hoher Temperatur gesättigten Lösung erhält, beruht nach der Ansicht des Verf. auf einer Zersetzung des Ammoniumoleats in Säure und Ammoniak durch die Erhitzung. Da sich also die fließenden Kristalle nur unter solchen Bedingungen bilden, wo die Bildung freier Ölsäure möglich ist, bezweifelt Verf. die Existenz der fließenden Kristalle des Ammoniumoleats.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Lehmann, O., Die flüssigen Kristalle des Ammoniumoleats. Antwort an Herrn A. Mlodziejowski (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **52**, 1913, p. 592—601).

Lehmann findet bei Nachprüfung der Beobachtungen Mlodziejowskis dieselben zum großen Teil nicht bestätigt. Aus wasserhaltigen Lösungen erhielt er Kristalle von wachsartiger Konsistenz nur bei Anwesenheit überschüssiger Ölsäure. Bei überschüssigem Ammoniak in wasserhaltigen Lösungen entstanden stets flüssige Kristalle. Die ersteren hält Lehmann für saures Ammoniumoleathydrat, die letzteren, flüssigen, für neutrales. Die wasserhaltigen, festen Kristalle des sauren Ammoniumoleats erhält man aus den flüssigen durch Zugabe von Ölsäure; beim Auflösen der festen, wasserhaltigen Kristalle in Alkohol und durch Zugabe von Ammoniak erhält man eine Lösung,

aus der sich fließende Kristalle ausscheiden. Die wasserfreien Kriställchen zeigen bei Deformationen nicht die Streifensysteme, die Mlodziejowski beobachtete; diese Streifensysteme können keine Zwillingslamellen darstellen, da sie meist fächerartig von einem Punkte ausgehen, sie sind wohl auf periodische Ungleichheiten in der Raumgitterstruktur zurückzuführen. In heißer Ölsäure gelöst kristallisieren die wasserfreien Kristalle unverändert aus; bei Zugabe von Wasser oder Alkohol erhält man die wasserhaltigen, festen Kristalle. Dagegen geben die wasserfreien Kristalle mit wässerigem Ammoniak und eventuell Alkohol gemischt die wasserhaltigen, fließenden Kristalle. Die fließenden Kristalle bilden sich also am vollkommensten bei überschüssigem Ammoniak, das freie Ölsäure zerstören müßte. Bei vorherrschendem Ammoniak bilden sich aus alkoholischer Lösung Kristalle von der Gestalt tetragonaler Pyramiden. Bei Vergrößerung des Wassergehaltes runden sich die Kristalle, die Struktur wird halbisotrop (pseudoisotrop), nur die Hauptachsen der Moleküle bleiben parallel, die Nebenachsen werden regellos; dadurch treten natürlich an Stelle von zwei Symmetrieebenen unendlich viele. Durch Zusammenfließen kleiner Kriställchen oder Deformation größerer können pseudoisotrope Gebilde mit beliebiger Zahl von Hervorragungen entstehen. Das von Mlodziejowski beobachtete Herausfließen der Ölsäure aus den fließenden Kristallen ist die Aufrichtung der Molekülachsen senkrecht zur Glasfläche, wo ein flüssiger Kristall mit ihr in Berührung kommt. Die von ihm beobachteten Teiche sind nicht Reste von Wasser, sondern Mutterlauge, die umgebenden Massen sind pseudoisotrop gewordenes fließend-kristallinisches Ammoniumoleat, keine Ölsäure. Fließende Kristalle und Myelinformen werden durch freie Ölsäure zerstört und zu festem saurem Ammoniumoleat umgewandelt. Nur bei überschüssigem Ammoniak, das freie Ölsäure bindet, gedeihen gute Myelinformen. Die Veränderlichkeit der Doppelbrechung der sphärolithischen Tropfen kann dadurch erklärt werden, daß sich auf der Oberfläche eines isotropen Tropfens eine immer dicker werdende flüssig-kristallinische Haut niederschlägt, oder durch Aufnahme von Wasser unter Bildung eines wasserreicheren Hydrates. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Kaiser, E., Über ein Demonstrationsmikroskop für den mineralogischen und petrographischen Unterricht (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **53**, 1914, p. 397—403 m. 1 Fig. im Text).

Um den Zuhörern das in der Vorlesung Besprochene oder durch den Projektionsapparat Vorgeführte im Mikroskop selbst sichtbar zu machen, reichen bei der steigenden Frequenz an den Instituten die zur Verfügung stehenden Mikroskope häufig nicht aus, insbesondere da die Mikroskope nach der Vorlesung meist auch noch zu anderen Arbeiten gebraucht werden. Das von der Firma E. Leitz in Wetzlar nach den Angaben des Autors konstruierte Mikroskop gestattet dem

Beobachter, mehrere Präparate in beliebiger, rascher oder langsamer Folge hintereinander zu betrachten.

An Stelle eines gewöhnlichen Tisches ist eine große, runde Platte in einem viereckigen Rahmen mit abgeschrägten Ecken montiert; das Stativ geht durch die Mitte der Platte, die innerhalb des Rahmens um die Achse des Stativs drehbar ist; da sie etwas aus dem Rahmen heraussteht, kann sie leicht mit der Hand gedreht werden. An zehn Öffnungen in einem dem Strahlengange entsprechenden Abstande von dem Mittelpunkt der Platte können zehn verschiedene Präparate mit Klammern befestigt werden; die Öffnungen sind numeriert. Eine Einschnappvorrichtung legt die Lage jedes einzelnen Präparates beim Drehen der Platte für die Beobachtung fest. Zum Schutze der auf der Platte befestigten Präparate gegen unbefugte Berührung oder Verschiebung, wie sie besonders bei Anfängern vorkommt, ist die Platte durch eine Glasscheibe vor und hinter dem Stativ abgeschlossen. Mittels einiger Schrauben kann die Glasscheibe mit einem besonderen Schlüssel angeschlossen werden. Vor dem Stativ ist die Glasscheibe, dem Strahlengang entsprechend, durchlocht. Um auch ein Zerdrücken des Präparates zu verhüten, ist eine Anschlagvorrichtung angebracht, die, wenn sie festgestellt ist, eine Weiterbewegung des Tubus nicht gestattet. Da das Präparat nicht gedreht werden kann, ist das Mikroskop mit drehbarer Polarisationsvorrichtung mit Innenanalysator versehen.

Das Stativ ist auf einem starken Fuße umlegbar, so daß es auch direkt, ohne Veränderung für die Mikroprojektion benutzt werden kann. Als Anschlag für die horizontale Lage des Tubus ist am Fuß eine kleine Nase angebracht. Beim Projizieren verwendet man am besten an Stelle des Innenanalysators einen aufs Okular aufsetzbaren Analysator. Für die Beobachtung im konvergenten Licht ist ein einklappbarer Kondensor angebracht, außerdem eine verschiebbare Bertrandsche Linse. Bei Benutzung stärkerer Vergrößerung können in manchen Fällen allerdings nur Präparate von ungefähr gleicher Dicke Anwendung finden. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Michel, H., Die Unterschiede zwischen Birma- und Siamrubinen (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **53**, 1914, p. 533—537 m. 1 Tfl.).

Beide Fundorte können oft schon makroskopisch auseinander gehalten werden: die Farbe des Siamrubins spielt ins bräunlich-orange. In zweifelhaften Fällen schafft die mikroskopische Untersuchung Klarheit; die Einschlüsse sind in beiden Vorkommen verschieden.

Die Birmarubine zeigen in Dünnschliffen parallel der Basis ein System von langen, zarten Nädelchen von starker Lichtbrechung, die sich unter 60° schneiden: die Nadeln erscheinen schwarz und sind wohl Rutil. Die Einlagerung ist wohl nach den Absonderungs- und Gleitflächen orientiert: ob die Nadeln parallel der Kante (0001) : (1120)

oder (0001):(10$\bar{1}$1) liegen, konnte der Verf. an dem ihm zur Verfügung stehenden Material nicht entscheiden. Neben den feinen Nadeln sind noch größere Einschlüsse von Rutil vorhanden, die ein stark horizontal gestreiftes Prisma mit Pyramide erkennen lassen: meist sind sie in Reihen geordnet. Röhrenförmige, ungleichmäßig krumm verlaufende Hohlräume, stellenweise anscheinend ganz mit Flüssigkeit, zum Teil auch mit Gas gefüllt, sind seltener, desgleichen schwach lichtbrechende Flüssigkeitseinschlüsse von der Form des Wirtes.

Den Siamrubinen fehlen diese charakteristischen Einschlüsse nahezu ganz. Dafür erscheinen dünne, breiter ausgedehnte Hohlräume, vielfach mit geradliniger, aber auch mit regelloser Umgrenzung. Im Innern enthalten sie meist zarte, sechsseitig umrandete Täfelchen, die einander parallel eingelagert sind. Zwischen ihnen ziehen sich Kanäle hin, die mit Flüssigkeit gefüllt sind; die Flüssigkeitskanäle haben schwächere Lichtbrechung als die Rubine und die Täfelchen, die wohl auch Rubin sind. Im Innern der Hohlräume sitzen immer eine oder mehrere Blasen mit starker Umgrenzung und meist rundlicher Form. Zuweilen sind sogar reichliche Flüssigkeitseinschlüsse vorhanden, die in Reihen geordnet erscheinen. Bei den Siamrubinen scheint auch häufigere Zwillingsbildung zu sein, die einzelnen Lamellen sind dünner und zahlreicher.

Die verschiedenartigen Einschlüsse in beiden Vorkommen sind wohl auf verschiedene Bildung beider Lagerstätten zurückzuführen; über das Muttergestein des Siamrubins ist allerdings noch nichts Genaueres bekannt. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Berichtigung.

Bei der Korrektur ist übersehen worden, daß im Heft 1 dieses Bandes auf p. 30 die Zeilen 2. 3 und 5 doppelt gesetzt worden sind: dafür ist in Zeile 2 und 3 zu lesen:

$$n(a_k - a_0) \qquad (n - 1)(a_k - a_0)$$

und in Zeile 5:

$$(2n - 1)a_0 \qquad a_k.$$

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Abel, R., Bakteriologisches Taschenbuch. Die wichtigsten technischen Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 18. Aufl. Würzburg (Kabitzsch) 1914. VI u. 140 pp. 8⁰. 2 M.

Buchner, P., Praktikum der Zellenlehre. I. Teil: Allgemeine Zellen- und Befruchtungslehre. Sammlung naturwissenschaftlicher Praktika Bd. 5, Berlin (Gebr. Bornträger) 1915. VIII u. 336 pp. geb. 18 M.

Heimstädt, O., Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung (Handb. d. mikrosk. Technik. Herausgeg. v. d. Redaktion des Mikrokosmos). Mit 71 Abb. Stuttgart 1915. 2 M.

Kißkalt, K., u. **Hartmann, M.**, Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. II. Teil: Protozoologie. 3. Aufl. Jena (Fischer) 1915. VIII u. 110 pp. m. 83 zum Teil farb. Figg. 4 M.

Meyer, A., Erstes mikroskopisches Praktikum. Eine Einführung in den Gebrauch des Mikroskops und in die Anatomie der höheren Pflanzen. 3. vervollst. Aufl. Jena (Fischer) 1915. V u. 255 pp. m. 110 Figg. 8⁰. 6·50 M.

Möbius, M., Mikroskopisches Praktikum für systematische Botanik (II. Kryptogamae und Gymnospermae). Sammlung naturwissenschaftlicher Praktika Bd. **6**. Berlin (Gebr. Bornträger) 1915. VIII u. 314 pp. geb. 9·50 M.

Steinmann, P., Praktikum der Süßwasserbiologie. I. Teil: Die Organismen des fließenden Wassers. Mit Beiträgen von Dr. R. Siegrist-Aarau (Phanerogamen und Moose) und H. Gams-Zürich (Kryptogamen exkl. Moose). Sammlung naturwissenschaftlicher Praktika Bd. 7. Berlin (Gebr. Bornträger) 1915. VIII u. 184 pp. geb. 7·60 M.

Wilhelmi, J., Kompendium der biologischen Beurteilung des Wassers. Mit 148 Abb. im Text. 1915.

Die Kultur der Gegenwart. III. Teil. Abt. 3. Bd. **1**: Physik unter Redaktion von E. Warburg. Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1915. 762 pp. u. 106 Abb. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 171.)
geb. 22 M., geb. in Leinw. 24 M., Halbfranz. 26 M.

2. Mikroskope und Nebenapparate des Mikroskops.

Gebrauchsanweisung für den Schlitten-Objektivwechsler. Ausführung 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 82).

Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate (Auszug aus dem Hauptkatalog). 5. Ausgabe 1915. C. Zeiss-Jena (Mikro 261).

Stativ III. Ergänzbares Mikroskopstativ mit der Mikrometerbewegung nach M. Berger. 5. Ausgabe 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 93).

Stativ V. Laboratoriums- und Kursstativ mit oder ohne Kippvorrichtung. 6. Ausgabe 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 259).

3. Projektion und Mikrophotographie.

Vorläufiger Prospekt über das neue Epidiaskop und Episkop. C. Zeiss-Jena (Mikro 333) 1914.

Epidiaskop A. Ausgabe 1915. C. Zeiss-Jena (Mikro 337) 1915.

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Björnsson, E., Über einen neuen Thermoregulator (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd. **35**, 1915, H. 4, p. 74).

Böttcher, Ein Verfahren zur Verhütung des Bruches beim Deckgläschenreinigen (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 22, p. 1233; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 186).

Coulson, J., Messung und Wiedergabe sehr kurzer Zeiträume (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1915, H. 7, p. 57; vgl. Phys. Rev. vol. **4**, 1914, p. 40).

Evans, H. M., u. Schulemann, W., Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für pharmakologische Probleme. Ein Beitrag zur Pharmakologie kolloider Lösungen. Mit einem kolloid-chemischen Beitrag von F. Wilborn (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 30, p. 1508—1511; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 181).

Evans, H., M., u. Schulemann, W., Über Natur und Genese der durch saure Farbstoffe entstehenden Vitalfärbungsgranula (Folia haematol. Arch. Bd. **19**, H. 2, p. 207—219).

Giemsa, G., Zur Schnellfärbung [Romanowsky-Färbung von Trockenausstrichen] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 7, p. 493—496; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 173).

Goriaew, N., Meine Netzteilung für die Zählkammer (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 40, 1914, No. 49, p. 2039—2040; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 184).

Kingsbury, B. F., Cytoplasmic fixation (The Anatomical Record vol. 6, 1912, no. 2, p. 39—52; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 175).

Kiyono. Eine neue Modifikation der ALTMANNschen Granulafärbung ohne Osmiumsäure (Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. 25, No. 11, p. 481—482).

Kluyver, A. J., De ultrafilternatuur van het levend protoplasma (Chemisch. Wochenbl. Jahrg. 11, 1914, p. 574—576).

Kriegbaum, K., Über den mikroskopischen Nachweis von Oxydase in Gewebsschnitten. Mit einem Anhang über Vitalfärbung (Diss. med. München 1915). 8°.

Kulka, W., u. Sztahovszcky, Ein improvisierbarer Thermoregulator für Petroleumbeleuchtung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 2, 3, p. 237—239).

Land, W. J. G., A method of controlling the temperature of the paraffin block and microtome knife (Bot. Gaz. vol. 57, no. 6, p. 520—523 w. 2 figg.).

Loele, W., Beitrag zur Morphologie der Phenole bindenden Substanzen der Zelle (VIRCHOWS Arch. Bd. 217, 1914, H. 3, p. 334—351 m. 16 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 182).

Metz, C., Okularzählplatte (München. med. Wochenschr. Jahrg. 61, 1914, No. 18, p. 991—993 m. 1 Fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 183).

Pickel, J. M.,) Eine Filtrierpipette für Äther (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1915, H. 19, p. 166; vgl. Chem. Zentralbl. Bd. 19, 1915, p. 1353; Journ. of Ind. a. engin. Chem. vol. 7, 1915, p. 236).

Reagan, F. P., A useful modification of MANN's methyl-blue-eosin stain (Anat. Record vol. 8, no. 7, p. 401—402).

Roerdansz, W., Vereinfachte und zuverlässige Methode der Blutkörperchenzählung (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 40, 1914, No. 46, p. 1962—1964 m. 4 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 178).

Röthig, P., Weitere Erfahrungen über Vital-Scharlach 8 (Neurol. Zentralbl. Jahrg. 34, No. 7, 8, p. 265—266).

Schirokauer, K., Neues zur Technik der Blutuntersuchungen [Die Okularzählplatte nach C. METZ] (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 51, 1914, No. 20, p. 936—937 m. 1 Abb.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 184).

Schmidt, W., Schreibfeder für Registrierapparate (Zeitschr. f. Instrumentenkunde Jahrg. 35, 1915, H. 10, p. 256).

Todd, T. W., A tank for the preservation of anatomical material (Anat. Record vol. 8, no. 9, p. 444—446 w. 3 figg.).

Todd, T. W., Covers for dissecting tables (Anat. Record vol. 8, no. 9, p. 441—443 w. 3 figg.).

Walton, J. H., a. Judd, R. C.,) Ein Thermostat für niedrige Temperaturen (Deutsche Mechan.-Zeitg. 1915, H. 18, p. 156; vgl. Journ. physic. Chem. vol. 28, 1914, p. 717).

Weese, A. O., A simple electrical heating device for incubators, etc. (Anat. Record vol. 8, no. 9, p. 447—449 w. 4 figg.).

Wolff, M., Ein neuer Objekthalter zum Gebrauch mit anastigmatischen Doppellupen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **43**, 1915, No. 14—16, p. 454—547 m. 4 Figg.).

Zikes, Eine einfache Mikroskopierlampe (Allgem. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. Jahrg. **43**, 1915, No. 21, p. 161).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Ballowitz, E., Über eigenartige, spiralig strukturierte Spermien mit apyrenem und eupyrenem Kopf bei Insekten (Arch. f. Zellforsch. Bd. **12**, 1914, p. 147—157 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 194).

Bierens de Haan, J. A., Über homogene und heterogene Keimverschmelzungen bei Echiniden (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **36**, 1913, p. 473—536 m. 35 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 188).

Bierens de Haan, J. A., Über die Entwicklung heterogener Verschmelzungen bei Echiniden (ebenda Bd. **37**, 1913, p. 420—432 m. 5 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 188).

Brück, A., Die Muskulatur von Anodonta cellensis Schröt. Ein Beitrag zur Anatomie und Histologie der Muskelfasern (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 481—619 m. 81 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 191).

Dietrich, W., Die Metamorphose der freilebenden Süßwasser-Copepoden. 1. Die Nauplien und das erste Copepodidstadium (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **113**, 1915, p. 252—324 m. 19 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 196).

Eckardt, E., Beiträge zur Kenntnis der einheimischen Vitrinen (Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. **51**, 1914, p. 213—376 m. 82 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 190).

Erdmann, Rh., A new culture medium for Protozoa (Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. vol. **12**, no. 3, p. 57—58).

Fernau, W., Die Niere von Anodonta cellensis Schröt. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 253—358 m. 44 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 190).

Förster, J., Über die Leuchtorgane und das Nervensystem von Pholas dactylus (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **109**, 1914, p. 349—392 m. 15 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 192).

Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 7, p. 511—518).

Goldschmidt, R., Die Urtiere. Eine Einführung in die Wissenschaft vom Leben (Aus Natur und Geisteswelt. 160. Bändchen, 2. Aufl., m. 44 Abb. u. 96 pp.). Leipzig u. Berlin (B. G. Teubner) 1914. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 187.) 1·25 M.

Koch, A., Anatomische Untersuchungen an Psychoda albipennis (Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 51, 1914, p. 163—212 m. 27 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 195).

Merkel, E., Kristalle in Epithelzellkernen bei Xerophila ericetorum Müll. (Zool. Anzeiger Bd. 45, No. 6, p. 267—271 m. 5 Figg.).

Meves, F., Die Plastochondrien in dem sich teilenden Ei von Ascaris megalocephala (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 84, Abt. 2, 1914, p. 89—110 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 194).

Schmidt, W., Die Muskulatur von Astacus fluviatilis (Potamobius astacus L.). Ein Beitrag zur Morphologie der Decapoden (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **113**, 1915, p. 165—251 m. 26 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 197).

Stiasny, G., Studien über die Entwicklung des Balanoglossus clavigerus Delle Chiaje. 1. Die Entwicklung der Tornaria (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 36—75 m. 24 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 187).

Vanhöffen, E., Über Konservierung von Hydra (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde z. Berlin, 1913, p. 80; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 189).

Zupnik, L., Über Züchtungsversuche von Läusen aus Nissen (Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 28, 1915, No. 21, p. 564—565 m. 2 Figg.).

b. Wirbeltiere.

Ballowitz, E., Die chromatischen Organe. Melaniridosomen in der Haut der Barsche [Perca und Acerina]. Dritter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren-Vereinigungen bei Knochenfischen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 1—35 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 199).

Biondi, G., Über einige eigentümliche systematische postmortale Veränderungen der Nervenfasern des Rückenmarkes (Neurol. Zentralbl. Jahrg. 34, 1915, No. 6, p. 178—184 m. 3 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 218).

Brodersen, Beobachtungen an der Ossifikationsgrenze des Knorpels. II. Die Färbung frischen Knorpels mit Toluidinblau (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1915, No. 22, 23, p. 577—595 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 201).

Cajal, S., Ramón y, Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. I. Degeneración y regeneración de los nervios. Madrid 1913. 414 pp. c. 147 figg. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 214.)

Chevallier, P., Die Milz als Organ der Assimilation des Eisens (VIRCHOWS Arch. Bd. 217, 1914, H. 3, p. 358—393; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 207).

Downey, H., The origin and development of eosinophil Leucocytes and of haematogenous mast cells in the bone marrow of adult Guinea pig (Folia haematol. Arch. Bd. **19**, H. 2, p. 148—206 m. 1 Tfl.).

Eklöf, H., Chondriosomenstudien an den Epithel- und Drüsenzellen des Magen-Darmkanales und den Oesophagus-Drüsenzellen bei Säugetieren (Anat. Hefte, H. 153 [Bd. **51**, H. 1], 1914, p. 5—227 m. 8 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 206).

Da Fano, C., Modificazione del metodo di BIELSCHOWSKY per lo studio del cosidetto tessuto reticolare (Atti Soc. Lombarda Sc. med. e biol. vol. **3**, fasc. 4, p. 305—319).

Glaser, W., Die Nerven in den Blutgefäßen des Menschen (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1914, Anat. Abt. H. 4, 5, 6, p. 189—196 m. 6 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 218).

Gschwind, C., Systematische Untersuchungen über die Veränderungen der Hypophysis in und nach der Gravidität (Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre Bd. **1**, 1914, H. 6, p. 517—545; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 217).

Hammar, J. A., Methode, die Menge der Rinde und des Markes der Thymus sowie die Anzahl und Größe der HASSALLschen Körper zahlenmäßig festzustellen, unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse beim Menschen (Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre Bd. **1**. 1914, H. 4, 5, p. 311—396 m. 31 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 207).

Harris, H. F., Histologic differentiation by means of anilin stains in association with regressive mordanting, with special reference to elastic tissue (Journ. of infect. dis. vol. **15**, 1914, no. 3, p. 561—565).

Kraus, E. J., Das Kolloid der Schilddrüse und Hypophysis des Menschen (VIRCHOWS Arch. Bd. **218**, 1914, H. 1, p. 107—128 m. 1 Tfl. u. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 210).

Kuć-Staniszewska, A., Zytologische Studien über die HARDERsche Drüse. Zugleich ein Beitrag zur Fettsynthese (Anat. Anzeiger Bd. **47**, 1914, No. 15, 16, p. 424—431 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 212).

Legendre, R., Dispositif pour l'examen microscopique des nerfs vivants ayant leurs connexions anatomiques intactes et leur fonctionnement normal (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 10, p. 432—434 av. 1 fig.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 222).

Lengerken, H. v., Die Kolbenzellen von Anguilla und Petromyzon (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde z. Berlin 1913, p. 391—441 m. 17 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 224).

Lewy, F. H., Beitrag zur Kenntnis der Lymphwege des Gehirnes [Der Transport in der Lymphe löslicher Substanzen] (Arch. f. Anat. u. Physiol., 1914, anat. Abt., H. 2, 3, p. 143—156 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 215).

Lissauer, M., Über pathologische Veränderungen der Herzganglien bei experimenteller chronischer Alkoholintoxikation und bei Chloroformnarkose (Virchows Arch. Bd. 218, 1914, H. 3, p. 263—271 m. 3 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 217).

MacCordick, A. H., Eine verbesserte Methode für das histologische Studium der Arterien (Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. 25, 1914, No. 16, 17, p. 721—727 m. 5 Figg.).

Martinotti, L., Ricerche sulla fine struttura dell' epidermide umana normale in rapporto alla sua funzione eleidocheratinica (Arch. f. Zellforsch. Bd. 13, H. 4, p. 563—587).

Mieremet, C. W. G., Über Systemerkrankung und Tumorbildung der blutbereitenden Organe [Zugleich ein Beitrag zur Myelomfrage] (Virchows Arch. Bd. 219, 1915, H. 1, p. 1—41; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 200).

Neal, H. V., The morphology of the eye muscle nerves (Journ. of Morphol. vol. 25, 1914, no. 1, p. 1—163 w. 9 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 201).

Scaglione, S., Die Drüsen mit Innensekretion bei der Chloroformnarkose (Virchows Arch. Bd. 219, 1915, H. 1, p. 53—68; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 209).

Schröder, K., Eine neue Markscheidenschnellfärbung (Allgem. Zeitschr. f. Psych. Bd. 71, 1914, H. 6, p. 822—829).

Segawa, M., Über die Fettarten der Niere mit besonderer Berücksichtigung des physiologischen und pathologischen Fettes (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 58, 1914, H. 1, p. 1—47 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 212).

Smyth, H. F., The influence of bacteria upon the development of tissues in vitro (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 1, p. 12—23 m. 1 Tfl.).

Terni, T., Condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibii (Arch. f. Zellforsch. Bd. 12, 1914, p. 1—96 m. 7 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 221).

Unna, P. G., u. **Gans, O.**, Zur Chemie der Zelle. IV. Die Nissl-Körper (Berlin. klin. Wochenschr. 1914, No. 10; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 198).

Wenderowič, E., Der Verlauf der sensiblen, akustischen und mancher anderer Systeme auf Grund eines Falles von Bluterguß in die basalen Hemisphärenabschnitte (Arch. f. Psych. u. Nervenkrankh. Bd. 55, 1915, H. 2, p. 486—520 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 220).

c. Mikroorganismen.

Bail, O., Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. Neue Untersuchungen über kapsellosen Milzbrand (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 1, p. 38—46).

Basten, J., Über bakteriologische Arbeiten in der Front (München. med. Wochenschr. Jahrg. 62, 1915, No. 15, p. 531—532).

Behrens, Ch. A., An attenuated culture of Trypanosoma Brucei (Journ. of infect. dis. vol. 15, 1914, no. 1. p. 24—62).

Carini, A., u. **Macici, J.**, Über Pneumocystis Carinii (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 1, p. 46—50).

Clark, W. M., The „reaction" of bacteriologic culture media (Journ. of infect. dis. vol. 17, 1915, no. 1, p. 109—136).

Danek, St., Zur Frage des Nachweises von Milzbrandbazillen aus Bakteriengemischen durch Ausschüttelung mit Kohlenwasserstoffen (Aether petrolei und Pentan] (Wiener tierärztl. Monatsschr. Jahrg. 2, 1915, H. 1, p. 1—12).

Esch, P., Fleischnatronagar als Choleraelektivnährboden (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 62, 1915, No. 23, p. 790).

Erdmann, Ph., Formveränderungen von Trypanosoma Brucei im Plasmamedium. Vortrag (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 52, 1915, No. 31, p. 812—814).

Fascetti, G., Die wichtigsten und neuesten Anwendungen der Bakteriologie in der Milchwirtschaft (Int. agr.-techn. Rundsch. 1915, H. 2, p. 186—197 m. 2 Figg.).

Feiler, M., Über Ragitnährböden (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 52, 1915. No. 29, p. 767—768).

Galli-Valerio, B., La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 2, 3, p. 233—234; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 224).

Hempfer, M., Bakteriologische Untersuchungen von Schlagsahne (Diss. med. Gießen 1915). 8⁰.

Herzfeld, E., u. **Klinger, R.**, Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 1, p. 1—12).

Hirschbruch, A., u. **Diehl, F.**, Der vollwertige Ersatz von Liebigs Fleischextrakt im Typhusnährboden nach v. Drigalski und H. Conradi (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 41, 1915, No. 21, p. 606—607).

Holman, W. L., A method for making carbohydrate serum broth of constant composition for use in the study of Streptococci (Journ. of infect. dis. vol. 15, 1914, no. 1, p. 209—214).

Holman, W. L., The use of decolorized acid fuchsin as an acid indicator in carbohydrate fermentation tests with some remarks on acid production by bacteria (Journ. of infect. dis. vol. 15, 1914, no. 1, p. 227—233).

Horton, G. D., A simple method of cultivating bacilli, preferring conditions of partial anaerobiosis [B. abortus Bang; B. bifidus Tissier] (Journ. of infect. dis. vol. 15, 1914, no. 1, p. 22—23 w. 1 fig.).

Hottinger, R., Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram. Kolloidchemisch-optische Gesichtspunkte (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 5, p. 367—384).

Jaffé, H., Ein Vorschlag zur Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 4, p. 304—305 m. 1 Fig.).

Knack, A. V., Die Untersuchung im künstlichen Dunkelfeld (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 2, 3, p. 235—236; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 225).

Kolmer, J. A., A method of transmitting known numbers of Trypanosomes with a note on the numeric relation of Trypanosomes to infection (Journ. of infect. dis. vol. **17**, 1915, no. 1, p. 79—94).

Kolmer, J. A., A method of transmitting blood parasites (Journ. of infect. dis. vol. **16**, 1915, no. 2, p. 311—312).

Lentz, O., Bereitung eines Dieudonné-Agars mit Hilfe eines Blutkali-Trockenpulvers (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 15, p. 425—426).

Löwenfeld, W., Über eine Methode des raschen Typhusbazillennachweises (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 13, p. 433—435).

Maggio, C., u. **Rosenbusch, F.**, Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der „Vinchucas" [Wanzen, Triatoma infectans Klug] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 1, p. 40—46 m. 2 Tfln.).

Markl, J. G., Eine neue Vorrichtung für rasches und billiges Arbeiten bei Massenuntersuchungen auf Cholera (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1. Orig. Bd. 76, 1915, H. 4, p. 305—306 m. 1 Fig.).

Noguchi, H., Pure cultivation in vivo of vaccine virus free from bacteria (Journ. of exper. med. vol. **21**, 1915, no. 6, p. 539—570 w. 12 pl.).

Obé, M., Ein einfaches Verfahren zur Erleichterung des Nachweises von Meningokokken in der Lumabalflüssigkeit (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 18, p. 610).

Oettinger, W., Zur bakteriologischen Diagnostik im Feldlaboratorium (Therapie d. Gegenwart Jahrg. **56**, 1915, H. 8, p. 287—296).

Palier, E., The Wassermann reaction according to Wassermann himself (Med. Record vol. **88**, 1915, no. 3, p. 62—65).

Paneth, L., Feldmäßige Bakteriologie. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1915. XI u. 107 pp. m. 8 Figg. 8°. 3 M.

Pfeilschmidt, Über den Wert der Mandelbaumschen Typhusnährböden [Rosolsäure-Laktose-Blutagar] (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 1, p. 88—95).

Rautmann, H., Untersuchungen über den Desinfektionswert stark bewegter, trockener Heißluft (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 1, p. 50—62).

Sanfelice, F., Über die bei der Staupe vorkommenden Einschlußkörperchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 7, p. 495—511).

Saphier, J., Über die Herstellung der haltbaren Kollargolpräparate von Spirochäten und Hyphomyceten (Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 27, 1914, No. 33, p. 1214—1215; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 225).

Schmitz, K. E. F., Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 4, p. 306—319).

Schmitz, K. E. F., Die Brauchbarkeit des Kongorotnährbodens zur bakteriologischen Typhusdiagnose (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 41, 1915, No. 15, p. 426—427).

Schütz, F., Jahresbericht 1914/15 des Untersuchungsamts für ansteckende Krankheiten im Regierungsbezirk Königsberg (Hyg. Rundsch. Jahrg. 25, 1915, No. 15, p. 537—548).

Süßmann, Th. O., Die Verwendung von Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Cholera-Impfstoff mit Hilfe eines einfachen Apparates (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 4, p. 288—294 m. 3 Figg.).

Szász, A., Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 75, 1915, H. 5, 6, p. 489—495 m. 1 Fig.).

Uhlenhuth u. Messerschmidt, In Büchsen konservierte Bakteriennährböden für den Feldgebrauch (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 10, p. 279—280 m. 1 Fig.).

Vedder, Ed. B., Starch agar, a useful culture medium (Journ. of infect. dis. vol. **16**, 1915, no. 3, p. 385—388).

Wagner, G., Hefeagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 23, p. 772—773).

Zettnow, E., Eine Gallertbildung im javanischen Zuckersaft (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 75, 1915, H. 5, 6, p. 374—376 m. 5 Figg.).

Ziemann, H., Über eigenartige Malariaparasitenformen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 5, p. 384—391 m. 1 Tfl.).

Zinsser, H., Hopkins, J. G., a. Gilbert, R., Notes on the cultivation of Treponema pallidum (Journ. of exper. med. vol. **21**, 1915, no. 3, p. 213—220 w. 1 tav.).

d. Botanisches.

Amato, A., Über die Lipoide der Blastomyceten. Mikrochemische und chemische Untersuchungen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **42**, 1915, No. 25, p. 689—698).

Bayer, E., Mikroskopische Präparate der Kutikula der fossilen Pflanze Sclerophyllum alatum K. Feist (Bull. V. Kongr. böhm. Naturf. 1915, p. 324; vgl. Botan. Zentralbl. Bd. **129**, 1915, p. 378).

Bengen, F., Über die mikroskopische Untersuchung von Mehl und Backwaren, insbesondere über den Nachweis von Kartoffelbestandteilen (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. **29**, 1915, H. 6, p. 247; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 229).

Blunck, G., Ein neues Färbeverfahren für Kartoffelstärke (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 29, 1915, H. 6, p. 246).

Edgerton, C. W., A method of picking up single spores (Phytopathology vol. 4, 1914, p. 115; vgl. Botan. Zentralbl. Bd. **129**, 1915, p. 328).

Gothan, Neue Erfolge der Mazerationsmethode in der Paläobotanik (Zeitschr. d. d. geol. Ges. Bd. 67, 1915, H. 1, 2, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 230).

Guttenberg, H. v., Zur Kenntnis des Spritzmechanismus von Ecballium elaterium Rich. (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 1, p. 20).

Hanausek, T. F., Zur Erkennung der Zuckerrübe im Zichorienkaffee (Zeitschr. d. allgem. österr. Apothekervereins Bd. 53, 1915; vgl. Botan. Zentralbl. Bd. **129**, 1915, p. 184).

Hanausek, T. F., Zur Mikroskopie der Stärke im Mischbrot (Arch. f. Chem. u. Mikrosk. 1915; vgl. Botan. Zentralbl. Bd. **129**, 1915, p. 184).

Henneberg, W., Über den Kern und über die bei der Kernfärbung sich mitfärbenden Inhaltskörper der Hefezellen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **44**, 1915, No. 1—4, p. 1—57 m. 21 Figg.).

Henneberg, W., Über den Kern der Hefezellen. Ein Beitrag zur Erkennung des physiologischen Zustandes der Hefezellen (Wochenschr. f. Brauereien Jahrg. **32**, 1915, No. 15, p. 134—137).

Lindner, Joh., Über den Einfluß günstiger Temperaturen auf gefrorene Schimmelpilze [Zur Kenntnis der Kälteresistenz von Aspergillus niger] (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **55**, 1915, H. 1, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 230).

Lundqvist, G., Die Embryosackentwicklung von Pedicularis sceptrum carolinum L. (Zeitschr. f. Botan. Bd. 7, 1915, H. 9, p. 545; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 228).

Nathorst, A. G., Paläobotanische Mitteilungen. XI. Zur Kenntnis der Cycadocephalusblüte (Kongl. Svenska Vetensk. Handl. Bd. **48**, 1911, No. 2; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 230).

Plaut, M., Mit Fettfarbstoffen gefärbte Terpentinkitte, sowie über die Verwendung von Gelbglyzerin als Holz- und Korkreagens (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 3, p. 133; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 226).

Posner, C., Studien zur Mikroskopie von Mehl und Brot (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 29, 1915, H. 8, p. 329; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 229).

Potonié, R., Über die Diathermie einiger Carbon-„Farne" (Beih. z. bot. Zentralbl. Abt. 1, Bd. 32, 1915, H. 3, p. 468; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 230).

Ruhland, W., Untersuchungen über die Hautdrüsen der Plumbaginaceen. Ein Beitrag zur Biologie der Halophyten (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 55, 1915, H. 3, p. 409—498; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 228).

Schürhoff, B. N., Amitosen von Riesenkernen im Endosperm von Ranunculus acer (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **55**, 1915, H. 3, p. 499).

Sigmund, F., Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Phanerogamen, dargestellt in mikroskopischen Originalpräparaten mit begleitendem Text und erklärenden Zeichnungen. Stuttgart (Franckhs Verlagsbuchhandlung) 1915. 10 Lieferungen. 10·50 M.

Sorauer, P., Die mikroskopische Analyse rauchbeschädigter Pflanzen (Samml. v. Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden, herausgeg. von H. Wislicenus, 1911, H. 7, 58 pp. m. 1 Tfl.).

Spaeth, E., Über die Untersuchung von Backwaren (Brot, Kuchen) und über die hierzu empfohlenen Verfahren (Pharm. Zentralhalle Jahrg. 56, 1915, No. 19, p. 363, No. 30, p. 384, No. 31, p. 406).

Vaughan, R. E., A method for the differential staining of fungous and host cells (Ann. Miss. bot. garden 1914, pt. 1, p. 241—242).

Wasicky, R., Zur Mikrochemie der Oxymethylanthrachinone und über ein Anthraglykoside spaltendes Enzym im Rhabarber (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 1, p. 37; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 228).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Kaiser, E., Über ein Demonstrationsmikroskop für den mineralogischen und petrographischen Unterricht (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **53**, 1914, p. 397—403 m. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 234).

Lehmann, O., Die flüssigen Kristalle des Ammoniumoleats. Antwort an Herrn Mlodziejowski (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. 52, 1913, p. 592—601; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 233).

Michel, H., Die Unterscheidung zwischen Birma- und Siamrubinen (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **53**, 1914, p. 533—537 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 235).

Mlodziejowski, A., Beobachtungen über fließende Kristalle des Ammoniumoleats (Zeitschr. f. Kristallogr. Bd. **52**, 1913, p. 1—10 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 231).

Weinschenk, E., Die gesteinsbildenden Mineralien. 3. Aufl., 262 pp. m. 309 Textfigg., 5 Tfln. u. 22 Tab. Freiburg i. B. (Herdersche Verlagshandlung) 1915. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 231.)
Geb. 10·80 M.

Über Beizen und Beizenfarbstoffe.

Von

P. Mayer

in Jena.

In der interessanten und anregenden Schrift von Unna und Golodetz: Die Bedeutung des Sauerstoffes in der Färberei (Dermatologische Studien Bd. **22**, 1912, 128 pp.) bringt Unna an mehreren Stellen seine neueste Auffassung von Wesen und Bedeutung der Beizen zum Ausdruck. Er meint, in der Histologie sei der Begriff weiter gefaßt als in der Technologie, wo als solche hauptsächlich nur die Substanzen gälten, die „ein ausgesprochenes Verbindungsbestreben einerseits für die Farben, andererseits für die Textilfasern besitzen und daher beide Teile in eine unlösliche Tripelverbindung bringen" (p. 61). In der Histologie dagegen sei man „der Kürze des Ausdrucks wegen geneigt, sämtliche Stoffe unter dem Begriffe der Beizen zusammenzufassen, welche zum Gewebe und zur Farbe als drittes Moment hinzukommend, die Färbung verstärken oder in einzelnen Fällen sogar erst möglich machen" (p. 62). Indem er sodann die Theorie der oxypolaren Affinität aufstellt, die uns hier aber nicht angeht, gelangt Unna zu der „einheitlichen, ziemlich einfachen und für fast alle Fälle ausreichenden Definition: Beizen sind solche Stoffe, welche echt gefärbte Tripelverbindungen bilden" (p. 126). Die Natur der Beizen sei ganz gleichgültig: in der Tripelverbindung könne die Rolle der Beize auch das Gewebe oder der Farbstoff spielen. — Wie man sieht, ist das ein recht radikales Vorgehen[1], und ehe wir Unna darin folgen, müssen wir erst prüfen, ob es uns fördert.

---

[1]) Ganz neu ist das freilich nicht — siehe z. B. die hierher gehörigen Stellen in dem bei uns zu wenig bekannten Buche von G. Mann, Physiological Histology, Oxford 1902 (p. 224 ff.) — aber in dieser Schärfe wohl noch nicht geschehen.

Bekanntlich haben wir Mikroskopiker das Wort Beize den technischen Färbern entlehnt. Nötig war das vielleicht nicht, aber man übernahm mit der Methode des Beizens zugleich das Wort nebst seiner Definition, oder glaubte wenigstens, es zu tun. Denn stand oder steht der Begriff der Beize selbst nur bei den Färbern fest? Wie mir scheint, ist das nicht der Fall. Ich habe eigens mehrere neuere Bücher über die technische Färberei auf diesen Punkt hin durchgesehen und dabei gefunden, daß sie sich durchaus nicht einig sind. Ursprünglich bedeutete nämlich beizen etwa soviel wie beißen, und in dieser Weise brauchen das Wort noch heute die Metallarbeiter, indem sie z. B. das Eisen oder Messing beizen, d. h. durch Säuren vom Oxydüberzuge befreien und blank machen. Ohne Angriff geht es also dabei nicht ab, und das gilt auch von der Beizerei, um auf dem blanken Metalle einen neuen Überzug in anderer Farbe oder von anderer Beschaffenheit herzustellen: stets wird dabei die Grundsubstanz angegriffen. Der gleichen Ansicht ist von den Textilmännern Ganswindt (Theorie und Praxis der modernen Färberei, 2. Teil, Leipzig 1903), indem er die Beize die Faser chemisch verändern und dem eigentlichen Färben vorhergehen, mithin die sogenannten Nach- und Mitbeizen keine richtigen Beizen sein läßt (p. 69). Loewenthal (Handbuch der Färberei der Spinnfasern, 2. Aufl., Bd. **1**, Berlin 1900) dagegen ist weniger präzis und sagt z. B. auf p. 13 und 656, beim Einbade werden Farbstoff und Beize durch die Säure gelöst gehalten und wirken gleichzeitig auf das Gewebe ein, das darin gekocht wird. Farbstoff oder Beize dringen in die Faser mechanisch ein und werden dann „vielfach, aber bei weitem nicht immer“ chemisch darin befestigt. Speziell bei der Anwendung von Metalloxyden und Tannin diene dieses nur zur Befestigung jener auf der Faser, sei also die eigentliche Beize. Offenbar bringt aber das Tannin in der Faser keine chemische Veränderung hervor, mithin definiert Loewenthal die Beize nicht so scharf und richtig wie Ganswindt.

Ich will aber noch jemanden zu Worte kommen lassen, der den Mikroskopikern näher steht und bekannter ist. In der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, 2. Auflage von 1910, heißt es auf p. 102 des **1.** Bandes: Beizen siehe Anilinfarben und Färbung. Nun, bei den Anilinfarben ist von Beizen gar keine Rede, in dem anderen, gleichfalls von Witt geschriebenen, übrigens aus der 1. Auflage ganz unverändert abgedruckten (!) Artikel hingegen wird auf p. 413 gesagt, daß bei der adjektiven Färbung außer Gewebe und Farbstoff ein Körper notwendig sei, der „nach uraltem Sprachgebrauch“ als Beize

bezeichnet und „in den meisten Fällen vorher der Faser einverleibt, weniger häufig mit dem Farbstoff dem Färbebade zugesetzt wird“. Beize und Farbstoff bilden zusammen in der Faser eine unlösliche Verbindung, die (im Gegensatz zur substantiven Färbung) aber nicht von der Faser gebunden, sondern ihr nur eingelagert sei. Witt nennt sie daher auf p. 419 geradezu eine Pigmentierung und betrachtet die Beizen, die vor dem eigentlichen Färben auf die Faser wirken, als die vollkommneren. Zwar rechnet er die Gerbsäure auch zu den Beizen, aber wenn sie bei der Seide dazu dienen soll, die Färbung zu verhindern, dann vollbringt sie nur eine „Vorpräparation“ der Seide, nicht etwa, wie Unna auch hier sagen würde, eine Beizung. Also bei Witt ist ebenfalls ein konsequenter Gebrauch des Wortes und Begriffes Beize nicht anzutreffen.

Wie verfahren nun die Mikroskopiker? Diese haben von vornherein den Begriff der Beize ganz willkürlich angewandt und mit ihm auf die Dauer derart operiert, daß ich bereits 1897 und 1899 sowie später noch in jeder Auflage des Lee & Mayer von der Anwendung des Ausdruckes überhaupt abgeraten habe und zur Einführung des Terminus Vorbehandeln geschritten bin. Natürlich ohne jeglichen Erfolg, wie man recht deutlich gerade bei Unna sieht. Denn dieser sonst so verdienstvolle Autor betrachtet z. B. die Karbolsäure im Gemische von Pyronin und Methylgrün mit ihr deshalb als Beize, weil sie, wie er auf p. 92 sagt, das Methylgrün vor dem Ausgezogenwerden aus dem Gewebe durch den Waschalkohol schütze. Nach dieser Auffassung hat sie ja gar nichts mit dem Gewebe zu schaffen wirkt nicht im mindesten darauf ein, darf daher doch gewiß nicht mit dem Ausdruck Beize belegt werden. Indem aber Unna als „unser höchstes Ziel in der histologischen Färberei stets die Erhaltung und Verstärkung der Farbkontraste“ betrachtet (p. 92), versteigt er sich sogar zu einer fünffachen Beizung, nämlich 1) bei der Fixation des Gewebes, 2) einer Vorbeizung der Schnitte, 3) einer Beizung während der Tinktion, 4) einer solchen während der Entwässerung durch den Alkohol und 5) der letzten während der Aufhellung durch die Öle. Freilich ist der ganze Segen wohl nur für so subtile Gemische nötig, wie das Unna-Pappenheimsche, und so hat vor Unna wohl niemand den Zusatz eines Mittels zum Alkohol oder dem Intermedium[1]

[1]) Unna spricht dabei immer noch vom Aufhellen, obgleich ich doch schon so lange gezeigt habe, daß dies beim notwendigen Verdrängen des Alkohols durch ein sich mit dem Balsam vertragendes Mittel höchstens eine Nebenerscheinung bildet.

eine Beizung genannt. Ja, UNNA geht noch weiter, falls das überhaupt möglich ist: p. 126 Anm. 1 bezeichnet er als eigentliche Beizen solche, die „mit Gewebe und Farbe gleichzeitig in Kontakt kommen", schließt die Vorbeizen und Nachbeizen, für die „sich gar keine allgemeine Definition aufstellen läßt", aus und verkehrt so den Begriff geradezu ins Gegenteil! Wenn aber durch UNNA die Verwirrung nur noch größer wird, so fragt es sich, ob man nicht klüger handelt, indem man das Wort Beize ganz ausschaltet, statt seiner den harmlosen Ausdruck Zusatz einführt und, wie schon früher vorgeschlagen, von Vorbehandeln statt von Beizen redet. Dies um so eher, als UNNA (p. 126) mit vollem Recht einen prinzipiellen Unterschied zwischen dem technischen und histologischen Färben obwalten läßt.

In der Tat: stellte man einem Färber die Aufgabe, ein Tuch aus weißen Fäden von Baumwolle, Flachs, Hanf, Seide, Wolle, Jute und womöglich noch anderen Fasern so zu färben, daß diese Bestandteile sich voneinander durch die Farbe unterschieden, daß also die Wolle anders tingiert wäre als die Seide, usw., so würde man ihm das zumuten, was der Mikroskopiker färberisch zu leisten hat, will er mehr sehen, als das ungefärbte Objekt ihm verrät. Aber der technische Färber hat es mit einer solchen Aufgabe nicht oft zu tun: im Gegenteil, er soll in der Regel seine Stoffe gleichmäßig färben, so daß man — um bei dem angeführten Beispiele zu bleiben — die Zusammensetzung aus differenten Fäden nicht erkennt. Allermeist hat er ja nur Fasern von einer und derselben Art vor sich, die er in der ganzen Länge und Dicke homogen färben soll, und die erst später verwebt werden. Freilich hat er es beim Färben durch Drucken in der Hand, auf den Geweben Muster hervorzurufen, indessen sind die hierzu gebräuchlichen Chemikalien und Methoden auf die tierischen Objekte gar nicht anwendbar, da sie sie ruinieren würden, auch soll der Histologe ja keine Muster eigener Idee hervorbringen, sondern die dem Gewebe innewohnenden Verschiedenheiten nur deutlicher machen. Man sollte daher die Ausdrücke der technischen Färberei nicht so ohne weiteres auf die mikroskopische übertragen, sondern sich lieber resolut davon losmachen. Warum operieren UNNA, RAWITZ und andere noch jetzt mit einer Farbflotte statt mit einem Färbgemisch? Jenes Wort bedarf erst einer Erläuterung, dieses ist ohne weiteres klar und eindeutig. Dasselbe gilt von den sogenannten Farblacken, auf die ich weiter unten zu sprechen komme: auch diese Bezeichnung ist zum mindesten überflüssig.

Beizenfarbstoffe. Der Textiltechnik verdankt die Histologie auch diesen Begriff. Dort ist er ganz am Platze, denn mit Blauholz, Kochenille oder Krapp — um nur diese zu nennen — läßt sich auf der Faser direkt keine gute Färbung erzielen: sie ist entweder zu schwach oder nicht haltbar oder wird überhaupt nicht gebildet. Daher muß die Faser erst zur Aufnahme des wässerigen Auszuges aus den genannten Farbstoffen — oder der Lösung des ihnen entsprechenden reinen Stoffes, also des Hämatoxylins, der Karminsäure oder des Alizarins — vorbereitet werden, wobei sich außerdem der Vorteil ergibt, daß je nach der Art der Vorbehandlung (Beizung) die Faser in einem anderen Tone gefärbt wird. Immerhin macht man gegenwärtig von den Beizenfarbstoffen selbst in der technischen Färberei weniger Gebrauch als früher: aus dem einfachen Grunde, weil der Chemiker eine ganze Menge Farbstoffe aus dem Teere herzustellen verstanden hat und ihrer noch immer neue herstellt, die von der Faser direkt nicht nur aufgenommen sondern auch festgehalten werden und dem schädlichen Einflusse des Lichtes und anderer Agentien beim Gebrauche des Gewebes gut widerstehen, also mindestens so echt färben wie jene.

Wie verhält es sich nun hiermit in der histologischen Technik? Wird auch hier gebeizt, und wenn dies der Fall ist, gewinnt man dadurch das Recht, von besonderen Beizenfarbstoffen zu reden? Hierüber folgendes!

Gewiß: gebeizt (vorbehandelt) wird, und das absichtlich, indessen nicht so oft, wie man allgemein annimmt. Das bekannteste Beispiel ist die Färbung mit Hämatoxylin und Eisen nach Benda oder M. Heidenhain. Das ist eine typische „Beizenfärbung“ mit allen ihren Folgen: das Gewebe — fast immer dünne Schnitte — wird zunächst dem Einflusse einer wässerigen (seltener alkoholischen) Lösung eines recht sauren Eisensalzes ziemlich lange ausgesetzt; hat es davon aufgenommen — die Veränderungen, die es dabei erleidet, sind nicht genauer bekannt —, so gelangt es nach gründlichem Waschen mit Wasser in die Lösung des Farbstoffes, die unter Oxydation durch das Eisensalz, das im Gewebe zurückgeblieben ist, sich in eine ebenfalls nicht näher erforschte Verbindung, einen sogenannten Eisenlack des Hämatoxylins, umwandelt. Das Gewebe wird ganz schwarz: so schwarz, daß die Färbung, ließe man sie bestehen, zu nichts nütze wäre. Man muß also den Überschuß des Farblackes entfernen, was in diesem Falle durch Behandlung des Objektes mit einer Säure oder einem sauren Salze geschieht. Diese Auflösung des im und auf dem Ge-

webe niedergeschlagenen Lackes läßt man genau so weit gehen, wie man es dem jeweiligen Zwecke für angemessen erachtet, d. h. bis nur noch die Teile im Schnitte gefärbt geblieben sind, die man bequem erkennen möchte. Daß ein solches Verfahren unter Umständen nicht ungefährlich für die Deutung des Gefärbten werden kann, ist klar, nur leider nicht so gut bekannt, wie es sein sollte. Aber da es mit dem Beizen als Methode nichts zu tun hat, so gehe ich hier nicht weiter darauf ein.

Außer dem Eisen dienen als Beizen für das Hämatoxylin auch Kupfer, Chrom, Molybdän, Blei und Osmium[1], nur wird beim Chrom mitunter das Hämatoxylin zuerst genommen, fungiert demnach gewissermaßen als Beize, während das Chromsalz die Färbung hervorruft: so verfahren R. Heidenhain, Apáthy und Platner. Dagegen verwendet Hansen beide Agentien zusammen, muß allerdings den sogenannten Chromlack durch eine Säure gelöst halten. Ähnlich wird beim Eisen verfahren von Weigert, Hansen und Martinotti, beim Molybdän von Mallory, beim Wolfram ebenfalls von Mallory, beim Vanadium von M. Heidenhain, beim Zinn von Donaggio[2]. Wie man sieht, sind selbst beim Hämatoxylin die Fälle, wo nach dem alten Sprachgebrauche gebeizt wird, nicht sehr zahlreich. — In analoger Art wird mit dem Brasilin umgegangen: teils direkt, teils nach Beizung, aber immer nur mit Eisen. Das Alizarin dient entweder ohne jeden Zusatz für spezielle Zwecke, so für die Knochen (Spalteholz) oder die Nerven (Fischel), ebenso das Natriumalizarinsulfat (Schrötter), aber auch nach Beizung (Rawitz und besonders Benda). Das Purpurin wird nur von Grandis & Mainini ohne Zusatz benutzt, um den Kalk in den Geweben nachzuweisen, sonst jedoch lediglich in Verbindung mit Alaun (Ranvier, Grenacher). Endlich die Karminsäure: nur Lee und der Botaniker Pfeiffer verwenden es nach der Behandlung der Objekte mit einem Eisensalze, während Spuler umgekehrt zunächst einen Auszug aus Kochenille wirken läßt und das Eisen hinterherschickt. Dagegen bringt Hansen das Eisen-

[1]) Mit Blei in Form des Bleiessigs operiert Salkind (Anat. Anzeiger Bd. 41, 1912, p. 153), mit Osmium Schultze (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 27, 1911, p. 472), indem er die mit Osmiumsäure fixierten Objekte direkt in eine alkoholische Lösung von Hämatoxylin bringt. Die älteren Methoden siehe im Lee & Mayer, 4. Aufl., 1910, p. 167 ff.

[2]) Siehe auch hierüber die Einzelheiten im Lee & Mayer, 4. Aufl., 1910. Martinotti gibt nur eine Abänderung des Weigertschen Gemisches, die unbegrenzt lange haltbar sein soll, siehe Arch. f. Zellforsch., Bd. 12, 1914, p. 467.

karminat, d. h. den Auszug aus Kochenille plus Eisenalaun, durch Schwefelsäure zur Lösung und färbt hiermit, also ohne Vorbehandlung des Gewebes. Und vor allem die Tonerde wird nie separat dem Objekte einverleibt, sondern immer zugleich mit der Karminsäure. Das gilt natürlich erst recht, wenn man sich des Karmins bedient, da dieses ja nur in Lösung überhaupt wirken kann. Im ganzen gebraucht man daher — dies verdient betont zu werden — alle diese sogenannten Beizenfarbstoffe sehr oft ohne vorhergegangene Beizung, ja, vielleicht öfter in dieser Weise, als nach einer Beizung.

Richtig ist ferner, daß die erwähnten Farbstoffe auch dem Mikroskopiker, wenn er sie direkt auf die Objekte einwirken läßt, in den meisten Fällen eine wenig brauchbare Färbung liefern. Immerhin wird das Hämatoxylin (oder das Hämateïn) ohne Vorbehandlung zuweilen mit gutem Erfolge benutzt, freilich nur in ganz bestimmter Absicht[1]. Vom Alizarin und Purpurin habe ich soeben die hierher gehörigen Angaben gebracht. Und die Karminsäure ohne jeglichen Zusatz dient, wie ich aus noch nicht veröffentlichten Untersuchungen weiß, sehr gut zur Tinktion von Skeletteilen bei Knochenfischen, färbt auch Bindegewebe elektiv genug, um recht brauchbar zu sein, wenn es nicht schon bessere, d. h. stärkere, Farbstoffe für diesen Zweck in Menge gäbe. Alle diese Färbungen fallen natürlich in anderen Tönen aus, als es geschieht, wenn man entweder eine Vorbehandlung (Beizung) der Objekte vorausschickt oder die Farbstoffe zusammen mit gewissen Substanzen auf die Objekte wirken läßt. Aber ersteres geschieht ja auch mit den gewöhnlichen Teerfarbstoffen, z. B. durch Rawitz, wenn er die Schnitte nach Beizung mit Tannin und Brechweinstein in Safranin, Fuchsin, Methylviolett usw. bringt und so die Kerne ungefärbt, das Plasma hingegen gefärbt erhält, oder durch Schuberg, der sie erst mit Dahlia, dann mit jenen beiden „Beizen“ behandelt, oder durch Cox, indem er nach der Beizung Methylenblau usw. wirken läßt. Ebenso färben Methylgrün, Safranin usw. anders, wenn man ihre Lösung nicht in bloßem Wasser, sondern unter Zusatz eines basischen Stoffes, wie Borax oder Natriumkarbonat, macht. Aber darum fällt es doch niemandem ein, auch alle diese als Beizenfarbstoffe zu bezeichnen. Und wenn man es hier und in ähnlichen Fällen nicht tut, so sollte man auch Hämatoxylin, Alizarin, Karminsäure usw. nicht länger unter solch irreleitendem Namen gehen

[1]) Siehe hierüber Lee & Mayer, 4. Aufl., 1910, p. 160, sowie Alagna in: Arch. f. pathol. Anat. Bd. 204, 1911, p. 138.

lassen. Dazu hat ja nur die Analogisierung mit der Namengebung in der technischen Färberei geführt, die solange berechtigt sein mochte, wie man keinen näheren Einblick in die Unterschiede zwischen dieser und der Histotinktion gewonnen hatte, es jetzt aber nicht mehr ist. Also fort mit dem Namen Beizenfarbstoffe! Für den Mikroskopiker gibt es keine.

Ebenfalls in mißverstandener Auffassung der Bezeichnungen in der Textilfärberei hat man die so sehr gebräuchliche Anwendung von Karminsäure oder Hämatoxylin in Verbindung mit Alaun als eine Beizenfärbung hingestellt. Hier ist aber der Fehler viel größer, denn um eine echte Beizung handelt es sich dabei gar nicht, wenigstens nicht, sobald man in der typischen Weise verfährt, d. h. den Farbstoff auf das Gewebe in einer Lösung wirken läßt, die zugleich ein Tonerdesalz — allermeist den Alaun — enthält. Womit färbt man denn hier? Doch gewiß nicht nur mit Hämatoxylin oder Karminsäure allein, sondern mit einem Körper, der diese Farbstoffe plus der Tonerde enthält, also mit einem sogenannten Lacke. Das habe ich früher bei mehreren Gelegenheiten hervorgehoben, muß es aber, da es offenbar immer noch keinen Eindruck gemacht hat, hier von neuem erörtern und durch einige Zusätze verstärken, die sich auf meine jüngsten Ermittelungen über die Rolle des Alauns im Karm- und Hämalaun stützen. Zuvor möchte ich aber zeigen, daß der Ausdruck Lack gleichfalls aus der uns geläufigen Terminologie zu verschwinden hat.

Die Textilchemiker sind sich in der Definition des Begriffes Lack — in Frage kommt hier selbstverständlich nur der Farblack — wieder nicht ganz einig. So sagt z. B. Loewenthal (p. 4): „Adjektive Farbstoffe können sich mit Metallsalzen chemisch umsetzen und in farbige Körper übergehen, welche, in der Faser erzeugt, derselben . . . fest anhaften. . . . Diese farbigen Körper . . . werden Farblacke genannt.“ In einer Anmerkung dazu heißt es dann: „Solche Farblacke können auch ohne Gegenwart von Fasern hergestellt werden.“ Ganswindt (p. 158) ist viel kürzer: die Farblacke in Wolle sind „bis auf wenige Ausnahmen in Wasser unlösliche Verbindungen, über deren chemische Konstitution wir nur auf Mutmaßungen angewiesen sind“. Nietzki operiert mit dem Begriffe Lack ohne weitere Erläuterungen. Witt läßt die Lacke in Wasser unlöslich sein, redet aber gleichzeitig von „wasserlöslichen Lacken“ (p. 420); nach ihm „widerstehen die Lacke im strengsten Sinne des Wortes der Einwirkung auch solcher Agenzien, welche nach den allgemein gültigen Gesetzen der chemischen

Verwandtschaft zersetzend auf sie einwirken sollten, wenn sie als gewöhnliche Salze aufzufassen wären. Sie werden somit weder von mäßig verdünnten starken Mineralsäuren (z. B. Salzsäure, Schwefelsäure etc.), noch von starken Basen in verdünnter wässeriger Lösung (Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak usw.) zersetzt. Infolgedessen sind die Färbungen, welche auf der Bildung dieser merkwürdigen Körper beruhen, durch besondere Echtheit, Widerstandsfähigkeit und Dauerhaftigkeit ausgezeichnet" (p. 422). Diese Definition halte ich aber nicht für richtig, auch hat man ihr bereits indirekt widersprochen, so daß Witt sie vielleicht heute nicht mehr aufrechthalten würde. Guggiari nämlich (Ber. D. Chem. Ges. Jahrg. **45**, 1912, p. 2442 ff.) hat Fällungen von Alizarin, Karminsäure usw. mit Metallsalzen vorgenommen und dabei unter anderem ermittelt, daß beim Zusammentritte von Karminsäure in alkoholischer Lösung mit Salzen von Lanthan, Cer und Thallium „offenbar Verbindungen von stöchiometrischen Verhältnissen" entstehen, die zuweilen allerdings geringe Beimengungen enthalten. Das heißt doch nichts anderes, als daß es Salze sind. Und was die von Witt betonte Schwerlöslichkeit in Säuren oder Alkalien angeht, so muß ich sie wenigstens für die Karmin- und Hämateïnlacke wie schon früher so jetzt wieder auf Grund eigener Versuche (s. unten p. 258) verneinen. Schon lange hatte ich meine Fühlhörner nach den verschiedensten Seiten ausgestreckt, um einen oder den anderen Chemiker von Fach dahin zu bringen, der Frage nach der Zusammensetzung der Lacke näherzutreten. Leider bis vor kurzem immer vergebens. Erst neuerdings war Prof. Vongerichten so freundlich, im hiesigen technisch-chemischen Institute einen jüngeren Chemiker mit einer derartigen Arbeit zu betrauen, und wir hätten gewiß schon hübsche Resultate erhalten, wenn nicht der Krieg auch dieser friedlichen Tätigkeit durch die Einberufung des jungen Mannes einstweilen ein Ende gesetzt hätte. Ich bin daher nach wie vor auf die Literatur und meine eigenen geringen Untersuchungen angewiesen, aber auch diese deuten in die Richtung, daß es sich bei den Lacken nicht um geheimnisvolle Körper handelt, wie man es nach den Worten Witts annehmen müßte. Auf alle Fälle jedoch bedarf man des Ausdruckes Farblack in der Histologie gar nicht, sondern kann ihn ganz gut durch einen indifferenten (etwa: Verbindung oder Salz) ersetzen, dem nichts Mystisches anhaftet.

Um nun auf die sogenannte Beizenfärbung mit Karminsäure (oder Hämatoxylin) und Alaun zurückzukommen, so ist im Karmalaun, d. h. in der von mir angegebenen Lösung von Karminsäure

in 5prozentigem Alaunwasser, das färbende Prinzip nicht etwa die Karminsäure allein, sondern in Verbindung mit der Tonerde aus dem Alaun, ein Aluminiumkarminat. Dies ist vor allem festzuhalten. Was der viele überschüssige Alaun im Gemische tut, ist einstweilen eine Sache für sich. Denn es geht auch ohne ihn, wie wir gleich sehen werden. Setzt man nämlich zu einer Lösung von Karminsäure in Wasser — statt der freien Säure nimmt man besser ihr Ammoniaksalz oder einen wässerigen Auszug aus Kochenille, worin ein Alkalisalz der Karminsäure enthalten ist — eine Lösung von Aluminiumazetat, so fällt das Aluminiumkarminat aus. Leider nicht in Kristallen, auch habe ich hier nicht mit einer Analyse dieser Verbindung aufzuwarten, aus der ihre nähere Zusammensetzung hervorgehen würde. Immerhin handelt es sich um eine gut definierte Verbindung. Sie ist in Wasser und Alkohol unlöslich, dafür aber in Säuren und Alkalien ziemlich leicht löslich, besonders wenn man sie noch feucht, also gleich nachdem sie entstanden und durch Waschen mit Wasser vom überschüssigem Aluminiumazetat usw. befreit ist, mit einer Säure oder einem Alkali zusammenbringt[1]. Schon stark verdünnte Essigsäure ist in der Wärme zur Lösung geeignet, noch besser jedoch eine Mineralsäure, und an die Stelle eines Alkalis kann auch Borax treten. Eine derartige saure Lösung nun, die keine Spur von Alaun enthält, färbt, wenn man sie nicht gar zu sauer gemacht (oder den etwaigen Überschuß an Säure vorsichtig abgestumpft) hat, irgendein Objekt ähnlich wie es das Karmalaun tut, nur nicht so präzis d. h. nicht lediglich die Kerne, sondern auch das Plasma. Der Farbton ist aber genau der des Karmalauns — oder, was ja dasselbe ist, des Alaunkarmins — und durch Auswaschen mit Alaunwasser erhält man, indem das Plasma seine Färbung einbüßt, eine scharfe Kernfärbung, die nicht im geringsten von einer mit Karmalaun abweicht. Schon hieraus geht hervor, daß der Alaun im wesentlichen dazu da ist, die Mitfärbung des Plasmas, überhaupt aller Bestandteile in der Zelle, die nichts mit dem Chromatin zu tun haben, zu verhindern. Ich habe nun, um das ganz sicherzustellen, einer Lösung des Aluminiumkarminates in verdünnter Schwefel- oder Salzsäure 5 Prozent eines unschädlichen schwefelsauren Salzes, d. h. von Magnesium-, Natrium- oder Ammoniumsulfat, zugesetzt und in der

[1]) Nach Witt sollte sich dieser Körper, da man es ja bei ihm mit einem Lacke zu tun hat, nicht in verdünnten Säuren oder Alkalien lösen, er tut es aber ganz leicht, allerdings viel schwerer, wenn man ihn vorher getrocknet hat.

Tat gefunden, daß dann die Kernfärbung ebenfalls schärfer ausfiel als mit der reinen Lösung ohne ein solches Salz. Mithin wirkt der Alaun durchaus nicht als Beize, sondern verhindert — das ist doch das gerade Gegenteil — die allzu krasse, diffuse Färbung! Und er ließe sich nach dem eben gemeldeten Versuche auch wohl durch andere Salze ersetzen, aber da man eines Tonerdesalzes ja sowieso zur Erzeugung des färbenden Prinzipes, d. h. des Aluminiumkarminates, bedarf, so wendet man am einfachsten den Alaun gleich im Überschusse an, ähnlich wie man bei der Färbung nach Benda oder Heidenhain zum Ausziehen des zuviel niedergeschlagenen Eisenhämateïns aus den Objekten sich in der Regel nicht einer Säure vielmehr des Eisensalzes selber bedient.

Was ich soeben von der Rolle des Alauns beim Färben mit Karmalaun festgestellt habe, wird durch die alten Erfahrungen mit der Verwendung des Karmins nur bestätigt. Im Karmin haben wir wesentlich ein Aluminium-Calciumkarminat vor uns (siehe Lee & Mayer, 4. Aufl., 1910, p. 146). Da es keinen Überschuß an Alaun enthält, so ist es in Wasser ganz oder bis auf Spuren unlöslich. Bringt man es durch Alaunwasser zur Lösung, wie dies zuerst Grenacher mit solchem Erfolge für die Histotechnik tat, so hat man sofort ein Karmalaun vor sich, von dem hier nichts Neues zu sagen ist. Kocht man hingegen das Karmin in Ammoniak, Magnesiawasser, einer Lösung von Lithiumkarbonat oder Borax usw., also in einer basisch reagierenden Flüssigkeit, so erhält man Gemische, die zwar kräftig, aber stets mehr oder minder diffus färben, so daß man hinterher mit einer Säure auswaschen muß, um eine präzise Kernfärbung zu gewinnen. Man färbt demnach im richtigen Tone des Karmins auch ohne Alaun, bedarf mithin seiner nicht im entferntesten zur Beize.

Kehren wir nun zum Hämatoxylin zurück! Hier liegen die Dinge genau so: aus einer wässerigen Lösung von Hämateïn — oder von Hämatoxylin, das man durch Zusatz der richtigen Menge von Natriumjodat (oder eines anderen geeigneten Oxydans) in solches umgewandelt hat — wird durch Aluminiumazetat ebenfalls eine Verbindung der Tonerde mit dem Hämateïn ausgefällt, die nach gutem Waschen mit Wasser sich in Säuren ziemlich leicht löst. Und eine solche Lösung, die wiederum keine Spur von Alaun enthält, färbt in genau dem gleichen Tone, wie wenn man sich des Hämalauns oder eines analogen Gemisches bedient hätte[1]. Man sieht: selbst in

[1]) Auch Seide und tannierte Baumwolle werden durch Kochen in

diesem von Unna speziell benutzten Falle — ich komme gleich darauf zurück — kann von einer Rolle des Alauns als Beizmittel keine Rede sein! Natürlich, wenn man die erwähnte Verbindung von Tonerde und Hämateïn, die in reinem Wasser unlöslich ist, statt durch eine Säure durch Alaunwasser zur Lösung bringt, so hat man diesen glücklich darin eingeführt, hat mit anderen Worten ein Hämalaun gemacht, und dann darf man sich den Unnaschen Trugschluß erlauben, der sich sofort als falsch herausstellt, wenn man das Färbgemisch ohne Alaun bereitet. Daß aber Unna zu seiner eigentümlichen Ansicht kam, hat zu einem guten Teile seinen Grund darin, daß er gleich vielen anderen Mikroskopikern — so oft ich auch dagegen geeifert habe — nicht davon lassen kann, von einer Färbung mit Hämatoxylin zu reden statt von einer mit Hämateïntonerde. Das wäre doch nicht im geringsten anders, als wenn ich sagen wollte, unsere Hausfrauen salzen die Speisen mit Chlor! Nein, der Histologe färbt nicht mit Hämatoxylin, auch nicht mit Karminsäure, sondern mit Hämateïn- resp. Karminsäure-Tonerde, und wenn er sich des Karmins bedient, so hat er darin ja die Tonerde gleich bei der Hand. Daß alles ist so einfach, daß man nicht begreift, wie es nicht in den Kopf der Färbtechniker unter den Histologen hinein will.

Im Zusammenhange mit den obigen Darlegungen möchte ich noch auf eine Behauptung Unnas näher eingehen, die er vom Alaun macht. Er sagt bei der Aufstellung seiner neuesten Definition der Beize, nämlich, daß diese nur das Bindemittel zwischen zwei anderen Stoffen sei, die lediglich mit ihr die echt gefärbte Tripelverbindung ergäben, folgendes (p. 126): „Die Ferri-, Chromi- und Kuprisalze binden in wohlbekannter Weise Farbe und Gewebe zusammen, auch wenn letztere untereinander keine starke Verwandtschaft haben und sie tun das, auch ohne Lacke zu bilden, indem sie als Oxydatoren sich oxypolar mit den reduzierenden Elementen des Gewebes verbinden. Andererseits bildet in der gewöhnlichen Hämatoxylinfärbung das Hämateïn die Beize, d. i. das Verbindungsmittel zwischen dem Alaun, welcher sich mit dem Gewebe chemisch nicht verbindet und dem Gewebe, zu dem es eine nur schwache Affinität hat.“ Die weiteren Beispiele, die Unna hier zur Stütze seiner seltsamen Auffassung bringt, also Methylenblau-Tannin sowie Säurefuchsin-Tannin, gehen uns nichts an: sie sollen nur die These illustrieren helfen, daß

---

diesem „Einbade“ schön blauviolett gefärbt, nicht so gleichmäßig und tief untannierte Baumwolle (Kapok) und Wolle.

als Beize mal das Gewebe, mal der Farbstoff, mal das Tertium, d. h. das Metallsalz, wirken könne. In diesem Sinne ist auch das „andererseits" zu verstehen, womit UNNA den Satz vom Alaun einleitet. Aber von diesem Satze möchte ich bei aller sonstigen Achtung vor UNNA schlankweg behaupten: so viele Angaben er enthält, so viele Unrichtigkeiten! Wo steht geschrieben, daß das Hämatoxylin nur eine schwache Neigung zu den Geweben habe? Allerdings gibt es, wenn man es allein auf ein Objekt in toto oder auf Schnitte wirken läßt, keine starken Färbungen, aber dafür kann es eben nicht, das liegt daran, daß es selbst nur schwach gefärbt ist, so schwach, daß ein Kristall von ihm ganz klar aussieht, und sogar einer von Hämateïn bei Betrachtung mit dem Mikroskope ebenfalls hell erscheint. Aber färben tut es, d. h. es wird vom Gewebe aufgenommen und gebunden. Die ihm analoge Karminsäure verhält sich ebenso, nur kann man sie, da sie eine recht lebhafte Färbung zeigt, in den Objekten leichter erkennen und wird dann z. B. finden, daß sie das Bindegewebe kräftig färbt (s. oben p. 258). Noch bedenklicher ist UNNAS Meinung, der Alaun verbinde sich chemisch nicht mit dem Gewebe. Allerdings so stark wirkt er nicht, daß er zum Fixieren frischer Objekte dienen könnte, und ich gebe LEE ganz recht, wenn er (LEE & MAYER, 4. Aufl. 1910, p. 49) sagt: „Alaun ist auch zum Fixieren verwandt worden. Nach ausgedehnten Versuchen muß ich aber dringend davor warnen." Indessen wird er vom Gewebe gar nicht übel aufgenommen und hat nur die schlechte Gewohnheit, nicht in die Tiefe zu dringen, so daß er, wenn überhaupt, ausschließlich für ganz dünne Objekte in Frage käme.

Ich hatte gleich damals, wie mir UNNA seine Schrift übersandte, ihm meine Bedenken kurz geäußert, und daraufhin forderte er seinen Mitarbeiter GOLODETZ auf, die Wirkung des Alauns auf Hautgewebe vom Menschen zu untersuchen. In einem Schreiben vom Anfang Febr. 1912 berichtete mir nun GOLODETZ darüber. Er ließ Hautstücke oder nur Oberhaut in 5prozentigem Alaunwasser liegen, wusch sie gut aus und machte dann entweder auf dem Gefriermikrotome oder nach Einbettung in Zelloïdin Schnitte davon. Zum Nachweise des etwa aufgenommenen Aluminiums diente ihm eine schwache, wässerige Lösung von Hämatoxylin. Es ergab sich, daß erst nach mehrtägigem Verweilen in der Alaunlösung etwas aufgenommen worden war; im Gegensatz dazu verband sich z. B. Eisenchlorid schon in einigen Minuten mit der Hornhaut derart fest, daß es sich durch kein Auswaschen mehr entfernen ließ. GOLODETZ gelangt so zu dem Schlusse,

daß von einer direkten Verbindung des Alauns mit der Hornschicht, wie sie viele Metallsalze eingehen, keine Rede sein könne. Daraufhin stellte ich im Februar 1912 selber Versuche an und erreichte, freilich an anderen Objekten, total verschiedene Resultate. Ich führe sie hier kurz vor.

1. Versuche mit Tubularien. Einige Tubularien werden in einer 1prozentigen Lösung von Alaun in Seewasser $^1/_2$ Stunde lang belassen, dann gut mit destilliertem Wasser gewaschen und auf $1^1/_2$ Tage in 50prozentigen Alkohol gebracht. Beim Einlegen in eine wässerige Lösung von Hämatoxylin ergibt sich eine gute Kernfärbung der Gonophoren, eine stark diffuse der Tentakel. Jedenfalls ist demnach die Tonerde aus dem Alaun nicht nur aufgenommen, sondern auch trotz dem langen Liegen der Objekte im Alkohol nicht ganz daraus wieder entfernt worden. Auch fixierte ich Tubularien in 50prozentigem Alkohol, in 5prozentiger Alaunlösung, in ebensolcher, die mit Essig- oder Salpetersäure vermischt war, endlich in einer Lösung von Chloraluminium, also in fünferlei Flüssigkeiten. Die Fixation dauerte entweder nur etwa $^5/_4$ Stunden oder über Nacht, mithin wurden 10 Proben angestellt. Nachher wurden die Tubularien natürlich gut ausgewaschen und dann mit einer wässerigen Lösung von Hämatoxylin geprüft. Die mit Alkohol fixierten färbten sich nur hellgelb, die mit Alaun tiefblau und nicht elektiv — die Färbung wurde durch Ausziehen mit salzsaurem Alkohol sehr distinkt, mithin lag eine Überfärbung vor —, die mit angesäuertem Alaun waren heller blau und hatten mehr eine reine Kernfärbung aufzuweisen. Es war also viel Tonerde gespeichert worden. (Die Färbung mit Karminsäure in schwacher wässeriger Lösung ergab das Nämliche.)

2. Versuche mit *Scyllium catulus*. Blut dieses Fisches wird etwa $^1/_2$ Stunde lang in einer etwa 2prozentigen Lösung von Alaun fixiert, dann in der Zentrifuge mit Wasser und mit 35prozentigem Alkohol ausgewaschen. Wässerige Lösung von Hämatoxylin liefert dann eine starke Kernfärbung, die allerdings nicht so scharf ist wie mit Hämalaun, aber ebenso intensiv. Leider habe ich damals nicht auch Blut direkt in Alkohol oder Formol fixiert, weiß also nicht, ob nicht schon das Eisen in den Erythrocyten eine ähnliche Färbung mit Hämatoxylin hervorgerufen hätte, und lege daher dem Versuche selber kein großes Gewicht mehr bei.

3. Versuch mit einer Fliege. Ein Weibchen einer *Calliphora* wird mit Chloroform getötet und mit dem Rasiermesser der

Länge nach halbiert. Die eine Hälfte wandert sofort in 50prozentigen Alkohol, die andere wird in 5prozentigem Alaunwasser fixiert, gut mit Wasser gewaschen und durch Alkohol von 35 Prozent in solchen von 50 Prozent übergeführt. Mit einer wässerigen Lösung von Hämatoxylin färben sich dann die Brustmuskeln, Ovarien usw. in der einen Hälfte des Tieres nur schwach gelb, in der anderen hingegen tiefblau; letztere Färbung geht durch sauren Alkohol in eine schöne Kernfärbung über. Mithin ist viel Tonerde gespeichert worden, allerdings ganz diffus.

4. Versuche mit pflanzlichen Objekten. Die Oberhaut der Blumen- oder Laubblätter von Hyazinthen, die sich leicht abziehen läßt und sehr große Kerne und Zellen aufweist, sowie Querschnitte aus freier Hand durch ein Radieschen eignen sich gut zu diesen Proben. Direkt in 50prozentigen Alkohol gebracht und mit Hämalaun gefärbt, zeigen beiderlei Objekte eine gute Kernfärbung, mit wässeriger Lösung von Hämatoxylin allein eine schwache Gelbfärbung der Zellhäute und nur da, wo das Messer eine Spur von Eisen abgegeben hatte, eine blaue. Auf die $^1/_2$stündige Fixierung hingegen mit einer Lösung von Alaun (5 Prozent, allein oder mit Essig- oder Salpetersäure versetzt) oder Chloraluminium erfolgt nach regelrechtem Auswaschen mit Wasser und Alkohol wieder eine sehr starke Färbung mit Hämatoxylin, besonders in den Zellhäuten. Selbst aus den Stücken, die im destillierten Wasser die ganze Nacht hindurch gelegen hatten, war der Alaun, richtiger die Tonerde, nicht völlig verschwunden, obwohl die Färbung mit Hämatoxylin schwächer ausfiel als nach kurzem Waschen. Besonders rasch wurde die Tonerde aus der Lösung von Chloraluminium aufgenommen. — Ferner wurden Streifen der Oberhaut (und Tubularien) in Alkohol von 50 Prozent, dem auf je 20 cc nur 1 Tropfen der 5prozentigen Alaunlösung zugefügt worden war, eingelegt. $1^1/_2$ Tage später wurde die Probe mit wässeriger Lösung von Hämatoxylin gemacht: Oberhaut sehr blau, auch die Kerne, Tubularien ebenfalls, namentlich an der Oberfläche; mit einer Lösung von Hämatoxylin in Alkohol von 70 Prozent war die Färbung viel zarter und zeigte sich in die Entodermkerne der Tentakel vorgedrungen, allerdings etwas diffus. In diesem Experimente hatten also die Objekte den Alaun aus einer Lösung von nur 1:6000 mehr als hinreichend aufgenommen und in Form einer schwerlöslichen Verbindung festgehalten!

5. Versuche mit aufgeklebten und entparaffinierten Schnitten durch die in starkem Alkohol fixierte Leber eines Hundes, auch

durch eine ebenso fixierte Schnecke (*Limax*). Die Schnitte gelangten erst auf $^1/_2$ Stunde in die 5prozentige Alaunlösung, wurden gut gewaschen und ergaben dann mit Hämatoxylin eine Kern- nebst schwacher Plasmafärbung. Ähnlich bei längerem Verweilen in Alaun und ebenso längerem Auswaschen. Schnitte durch Haut und Darm eines Rochens (*Raja*) lieferten, mit Alaun etwa $^1/_2$ Stunde lang behandelt und über Nacht ausgewaschen, noch eine allerdings schwache Färbung der Kerne und eine intensive des Knorpels.

6. Versuche mit nicht aufgeklebten Schnitten durch die Hundeleber noch im Paraffin. Ich lasse sie über Nacht schwimmen auf Hämalaun, der 5prozentigen Lösung von Alaun und einer von Hämatoxylin. Das Hämalaun liefert eine prachtvolle Kernfärbung, das Hämatoxylin so gut wie gar keine, der Alaun nach gutem Waschen in Wasser und Färben mit Hämatoxylin eine starke Färbung, die freilich etwas diffus ausfällt. Also selbst in dieser für die Aufnahme von Reagentien nicht allzu günstigen Lage zeigte das Gewebe noch Lust zur Erwerbung und Speicherung von Tonerde.

Daß ich diese meine Resultate höher anschlage als die von Golodetz, die ich aber damit nicht etwa anzweifele, wird mir wohl niemand verübeln, denn sie sind an Objekten aus ganz verschiedenen Gegenden des Tier- und Pflanzenreichs gewonnen worden. Unnas Fehler ist einfach der gewesen, daß er sich zu sehr an sein Lieblingsgewebe, die Haut des Menschen, gehalten hat, die offenbar, namentlich in ihrer Hornschicht, ganz einseitig entwickelt ist und nicht als ein Paradigma für allgemeine Darlegungen dienen kann.

Um die hauptsächlichsten Ergebnisse noch einmal zusammenzufassen, so glaube ich folgendes gezeigt zu haben. Die Ausdrücke Beize und Lack, wie der Färbtechniker sie anwendet, sind für den Mikroskopiker nicht nur überflüssig, sondern sogar schädlich, letzteres, weil sie die richtige Auffassung vom Zustandekommen der Tinktionen verhindern. Für Beize läßt sich in den Fällen, wo wirklich mit derartigen Chemikalien gearbeitet wird, der Ausdruck Zusatz, Verbindung, Bindemittel, oder wenn man ein Fremdwort vorzieht, Colligator, verwenden, ebenso für Beizen Vorbehandeln: für Lack schlechtweg Verbindung, auch wohl Salz. Jedenfalls sollte man den Lack der ihm von Witt verliehenen etwas mystisch klingenden Eigenschaften entkleiden und darin nichts mehr und nichts weniger sehen als eine von den Chemikern noch nicht genau genug untersuchte Verbindung eines Farbstoffes mit einem Metalle sens. lat. Mit den Beizenfarbstoffen sollte man gleichfalls gründlich aufräumen:

für den Histologen existieren sie nicht, denn dieser braucht zum Färben entweder sie allein, so daß keine „Beize" ins Spiel gelangt, oder in chemischer Verbindung mit anderen Stoffen. In diesem Falle aber sind sie zu neuen Körpern mit neuen Eigenschaften geworden, was gerade durch die gewöhnliche Bezeichnung nicht zum Ausdrucke und daher den Histologen meist nicht zum Bewußtsein kommt. Der Alaun endlich ist keine Beize, dient also nicht im geringsten zur Befestigung des Farbstoffes in den Geweben, sondern verhindert die allzu diffuse Färbung der Objekte, bewirkt mithin genau das Gegenteil dessen, was er in der ihm bisher zugeschriebenen Eigenschaft leisten würde.

Jena, Normannenstr. 3, im November 1915.

[Eingegangen am 25. November 1915.]

Die direkte Färbung von Paraffinschnitten.

Von

Dr. med. P. Diettrich,

Hals-, Nasen-, Ohrenarzt, Greiz (Reuß ä. L.).

In nachfolgendem habe ich die vorläufigen Ergebnisse niedergelegt von Untersuchungen über die Möglichkeit, Paraffinschnitte ohne Entfernung des Paraffins verschiedenen Färbungen für mikroskopische Zwecke zu unterwerfen. Es waren zwei ganz verschiedene Beweggründe, welche mich veranlaßten, die schon vor acht Jahren begonnenen und schon damals nach wenigen Monaten zu einem ganz erfreulichen Erfolge geführten Untersuchungen immer wieder aufzunehmen, so daß es mir nach zahlreichen, langen Unterbrechungen nunmehr gelungen ist, nicht bloß mit empirisch festgelegten Vorschriften vor die Öffentlichkeit zu treten, sondern auch die Grundlinien für ein weiteres Fortschreiten auf dieser Bahn zu geben. Den eigentlichen Anreiz zu meinen Untersuchungen bildete ein Kursus im Tropeninstitut in Hamburg, wo ich die hervorragenden Farbergebnisse der Giemsa-Methode an Blutausstrichen kennen lernte, und der Wunsch, diese herrlichen Farbresultate mit Sicherheit und möglichst einfacher Methodik auch auf Schnitte zu übertragen. Neben dieser Absicht, eine Farbmethode zu finden, welche neue Aufschlüsse besonders in histologischer Beziehung zu geben versprach, lief eine andere dahin zielend, die äußerst umständliche Durchführung der Schnitte durch eine große Zahl von Flüssigkeiten zu vereinfachen, um nicht stundenlang an den Arbeitstisch gefesselt zu sein, nur um die Präparate überhaupt erst einmal herzustellen. In den Lehrbüchern der mikroskopischen Technik ist ja schon lange zu lesen, daß direkte Färbungen der Paraffinschnitte wiederholt versucht worden sind, aber ebenso liest man, daß die Erfolge gar nicht befriedigende gewesen sind, daß vor solchen Färbungen, wegen unregelmäßiger Ergebnisse gewarnt wird; aber ein paar zufällige unbeabsichtigte Färbungen nicht von Paraffin befreiter Schnitte mit Methylenblau ließen mich dieses alte, immer wieder verlassene Problem neu aufnehmen. Eine Kernfärbung, die für viele histologische und pathologische Untersuchungen genügte,

hatte ich bald heraus. Der erste Erfolg war der, daß ich bei meiner äußerst beschränkten Zeit und den immerwährenden Abhaltungen durch die Praxis nicht mehr genötigt war, bei meinen Schnitten zu bleiben, wenn ich mit der Färbung begonnen hatte, sondern sie im Notfalle stundenlang sich selbst überlassen konnte. Einmal von Paraffin befreite Schnitte muß man in streng vorgeschriebener Reihenfolge weiter behandeln, Unterbrechungen würden sich schwer rächen, Unterbrechungen von Tagen an der einmal begonnenen Färbung sind überhaupt undenkbar. Aber weitere Versuche schienen die Wahrheit obiger Warnung zu bestätigen. Keine einzige basische Farblösung, außer Methylenblau-Löffler, gab brauchbare, gut differenzierte Kernfärbungen. Die basischen Anilinfarben ergaben meistens klecksige, überfärbte Bilder; wollte man sie differenzieren, so blaßte alles, auch der Kern ab. Andere, vielgebrauchte Farben, Karmin, Hämatoxylin schienen überhaupt nicht zu fassen. Von sauren Farben eigneten sich nur Eosin- und Pikrinsäure, sie zeigten, allein angewendet, eine sehr hübsche Plasmatinktion; aber jeder Versuch, das Ergebnis der Methylenblau-Kernfärbung mit der Eosinfärbung zu kombinieren, ergab das betrübende Resultat, daß das Präparat in der zuletzt angewendeten Farbe sich darstellte; eine Verbesserung der Methylenblaufärbung war diese Färbung nicht, zumal es in ganz unkontrollierbarer Weise fleckig heraus kam; neben diffus violett gefärbten Partien erschienen rein rote und rein blaue Inseln, und was das Böseste war, zahlreiche Farbstoffniederschläge störten das Bild. Da fiel mir eine Dissertation von Assmann in die Hand: der Verfasser färbte seine Ausstrichpräparate auf die Weise, daß er sie ähnlich der Leishman-Methode mit starker alkoholischer Lösung von Methylenblau-Eosin überschüttete, und dann direkt in Wasser die Umsetzung des gebildeten neutralen Farbstoffes vornahm. Dieser Fingerzeig brachte mich mit einem Male über viele Schwierigkeiten hinweg. Nach wenigen mißglückten Versuchen gelang es mir sowohl mit den käuflichen „neutralen Methylenblau-Eosin-Lösungen“ (Jenner, Reuter) in Alkohol, als auch mit der käuflichen Giemsa-Lösung ganz zufriedenstellende Erfolge zu erzielen.

Für Schnitte hatte Assmann zwar auch diese Übergießung mit alkoholischer Methylenblau-Eosin-Lösung und nachträglicher Differenzierung in Wasser angegeben, aber wohl gemerkt, für Schnitte, die von Paraffin befreit waren und nachher entwässert werden mußten. Ich ging vor, wie bei Blutausstrichen. Ich überschüttete einfach die noch paraffinhaltigen Schnitte $^1/_4$ Stunde lang mit der unverdünnten

spirituösen Methylenblau-Eosin-Lösung resp. mit der unverdünnten Giemsa-Lösung, wusch 1 Minute in Wasser ab, trocknete und brachte sie durch Xylol in Kanadabalsam. Freilich war der Farbton der auf solche Weise gefärbten Schnitte längst nicht so schön, wie der von Blutausstrichen. Sie waren zu rot; aber hierfür fand sich bald Abhilfe dadurch, daß ich die in der spirituösen Methylenblau-Eosin- resp. Azur-Eosin-Lösung diffus gefärbten, nicht von Paraffin befreiten Schnitte mit leicht alkalischem wässerigem Spiritus behandelte. Die ersten, auf diese Weise gefärbten Schnitte stammen aus dem Jahre 1908 und sind heute noch tadellos erhalten. Ich hatte damit eine schlimme Klippe umschifft, an welcher bisher alle Forscher gescheitert waren, welche die herrliche Giemsa-Färbung auf Schnitte anwenden wollten. Ich hatte nicht nötig, die gefärbten Schnitte zu entwässern, sondern konnte sie einfach trocknen, in Xylol von Paraffin befreien und in Kanadabalsam einschließen. Was bei meiner Methode einmal gefärbt war, wurde durch die Weiterbehandlung nicht verändert, was man von all den Versuchen, schon von Paraffin befreite Schnitte nach Giemsa zu färben, nicht sagen kann. Mochte man den Alkohol durch Azeton ersetzen, mochte man den Farbstoff durch Alaun, Jod, Tannin oder sonstige Mittel zu fixieren versuchen, stets wurde die einmal erzielte Färbung alteriert; und wer gar die Entwässerung durch noch so vorsichtige Trocknung herbeiführen wollte, durfte nicht überrascht sein, Schrumpfungen zu erhalten.

Es zeigten sich aber doch manchmal Störungen: auch die alkoholische Methylenblau-Eosin- und Azur-Eosin-Färbung wollte manchmal nicht recht fassen, ja in demselben Präparate zeigten sich oftmals kleine und große, ganz ungenügend gefärbte Inseln. Ich kam sehr bald hinter die Ursache dieser teilweisen Mißerfolge. Sie war begründet in der Art der Aufklebung der Schnitte. Um jede Spur einer Mitfärbung nicht zum Präparate gehöriger Teile zu vermeiden, hatte ich die sonst so befriedigende japanische Aufklebemethode verlassen (Aufstreichen einer minimalen Menge von Eiweißglyzerin, Überschütten des geronnenen Aufstriches mit Wasser, Auflegen der Schnitte, vorsichtige Erwärmung bis zum Verdunsten des Wassers) und benutzte die einfache Kapillaradhäsionsmethode, welche gar keines fremden Klebstoffes bedarf und für alle meine Fälle genügte, da die beschickten Objektträger ja nur zwei Bäder durchzumachen hatten. Bei den Bemühungen, das Befestigen der Paraffinschnitte zu beschleunigen, durch Erwärmen über der Flamme, passierte es aber doch hin und wieder, daß der Paraffinmantel eines Schnittes ins

Schmelzen kam; alle Gewebsteile, in deren Höhe das Paraffin nennenswert erweicht war, färbten sich schlecht oder gar nicht, und zwar bezog sich, wie verschiedene kleine Mißgeschicke, die bei meinem, leider gezwungenermaßen unruhigen Arbeiten unvermeidlich waren, diese Tatsache auf alle Arten von Flüssigkeiten bis zum Xylol.

Ich gebe also als erste Hauptregel folgende: die Paraffinschnitte können beliebig aufgeklebt werden. Es darf aber bis unmittelbar vor dem Xylolbade niemals soweit erwärmt werden, daß es über die Phase der Streckung hinauskommt. Der Paraffinmantel darf höchstens leicht glasig trüb werden, aber niemals ans Schmelzen kommen.

In den meisten Fällen genügt die einfache Kapillaradhäsionsmethode. Der gutgereinigte, eventuell zur besseren Haftung des Wassers mit einer Spur Glyzerin bestrichene Objektträger wird mit einer 2 bis 3 mm hohen Schicht Wasser bedeckt. Die Schnitte werden auf die Oberfläche des Wassers gelegt, so daß sie den Rand des großen Wassertropfens nicht berühren, dann wird der Objektträger über einer kleinen Flamme erwärmt, bis die Schnitte sich schön strecken, darauf läßt man durch Neigen des Objektträgers das Wasser abfließen, wobei man die Schnitte, falls nötig, durch eine gestielte Borste festhält und ordnet. Für langdauernde, besonders metallsalzhaltige Farbbäder, so besonders für Eisenhämatoxylin-Färbung nach meiner weiter unten zu erörternden Methode, wählt man besser die japanische Aufklebemethode, aber vermeidet auch hier jede Annäherung an den Schmelzpunkt des Paraffins. Um jeder Gefahr der Abschwemmung zu entgehen, kann man auch über die Schnitte einen hauchdünnen Überzug von Kollodium breiten, der bei den hier in Betracht kommenden Färbungen gar keinen schädigenden Einfluß hat. Worauf sich das verschiedene Verhalten der Schnitte mit geschmolzenem Paraffinmantel gründet, wird sofort klar, wenn man einen nicht von Paraffin befreiten Schnitt mit schwachen Vergrößerungen untersucht. Auch bei allersorgfältigster Einbettung und schneller Kühlung der Blöcke, sogar bei dem gekochten Paraffin nach Graf Spee, zeigt sich der Paraffinmantel aus lauter dendritischen und spiraligen Teilen zusammengesetzt und von zahllosen feinsten Spalten durchzogen. Beim Erstarren ist zwar das Paraffin von allen Gewebsteilen aufgesaugt worden, es liegt kein einziger Gewebsteil paraffinfrei, so daß er austrocknen kann, aber bei der bekannten Art der Zusammenziehung des erstarrenden Paraffins, die von außen her erfolgt, reicht der Raum im Innern des Blockes einfach nicht hin. Trotz schneller Kühlung erstarrt das Paraffin mikrokristallinisch und muß überall

feinste kapilläre Spalten bilden, dadurch ist es ermöglicht, daß die Farbflotte an alle Gewebsteile herantreten kann, auch wenn diese nicht direkt angeschnitten sind. Der verbleibende Paraffinüberzug über die einzelnen Gewebsbestandteile ist aber so überaus fein, hundert-, tausendmal feiner als die geringste Schnittdicke, daß eine direkte Osmose der Farblösung überall stattfinden kann. Freilich ergeben sich aus dem sonderbaren Verhalten mancher Farbstoffe, wie sie noch zu schildern sind, für mich unlösliche Probleme über Dissoziation und Oberflächenspannung, deren weitere Erforschung ich den Herren von der physikalischen Chemie überlassen möchte. Tatsache ist jedenfalls, daß alle Gewebsteile eines noch mit Paraffinmantel versehenen Gewebsschnittes, auch die verstecktesten, in durchaus gleichmäßiger Weise von der färbenden Kraft einer geeignet zusammengesetzten Lösung erreicht werden, immer unter der wiederholten Bedingung, daß der Paraffinmantel nicht ins Schmelzen gekommen ist. Ein gewisses Hindernis der Farbaufnahme bildet aber auch der allerfeinste Paraffinüberzug, denn niemals, wenn nicht grobe Fehler bei der Einbettung gemacht worden sind, findet eine so schnelle und intensive Erstfärbung statt, wie bei Schnitten, die von Paraffin befreit sind. Die Farbaufnahme findet viel langsamer statt, und man muß, um intensive Färbungen zu erzielen, recht konzentrierte Lösungen anwenden, aber anderenteils findet in gewissen, sehr breiten Grenzen auch keine Überfärbung statt, und was der größte Vorteil ist, es tritt eine so überaus saubere Differenzierung der Farbaufnahme aus Farbstoffgemischen durch verschiedene Gewebsbestandteile auf, daß bei dieser direkten Paraffinschnittfärbung nur eine Osmose durch den unmeßbar feinen Paraffinüberzug in Frage kommt.

Die einzelnen Farbstoffe verhalten sich nun sehr verschieden. Ich möchte gleich betonen, daß die von mir untersuchten Farben nur einen verschwindend kleinen Bruchteil der zu Gebote stehenden bilden, aber einesteils ist eine nur einigermaßen erschöpfende Durchprüfung bei der geringen, mir zu Gebote stehenden Zeit ganz unmöglich, anderenteils genügt es mir, für die mich interessierenden Untersuchungen eine kleine Zahl recht verschiedener und dabei durchaus sicherer Methoden herausgefunden zu haben, daß ich die umfangreiche Weiterbearbeitung ruhig anderen Forschern überlassen kann.

Betrachten wir zunächst das Verhalten e i n e s Farbstoffes: Mag ein einzelner Farbstoff in einem beliebigen Mittel gelöst sein, so zeigt sich, daß er, wenn er überhaupt faßt, so gut wie immer eine ganz diffuse Färbung ergibt, und merkwürdigerweise werden sowohl von

den basischen, als auch von sauren Farbstoffen die Kerne tierischer Gewebe meist etwas intensiver gefärbt, als das Zellplasma; man erhält Bilder, wie sie die alten Forscher gewohnt waren bei der damals in den siebziger Jahren allein üblichen Färbung mit Ammoniak-Karmin, Bilder, die man heute als schlecht beurteilt, aus denen aber eine verflossene Generation alles herauslesen mußte und wirklich alles herauslas. Aber die Intensitätsunterschiede zwischen Kern- und Plasmafärbung, oder, genauer ausgedrückt, zwischen der Färbung einesteils des Kernes und einiger anderer Bestandteile und anderenteils aller anderen Gewebsteile, ist bei der einen Farblösung größer, als bei der anderen, am geringsten bei den sauren Farben (Eosin, Säurefuchsin, Pikrinsäure), größer bei den basischen Anilinfarben, am ausgeprägtesten beim Methylenblau in wässeriger, ganz leicht alkalischer Lösung.

Ferner verhalten sich die Farbstoffe sehr verschieden in Rücksicht auf die angewendeten Lösungsmittel. Manche färben die noch nicht von Paraffin befreiten Schnitte sowohl in wässeriger wie in spirituöser oder methylalkoholischer Lösung (Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin, Eosin, Pikrinsäure). Die Farbkraft der basischen Farbstoffe wird dabei durch einen geringen Zusatz von Kalilauge sehr unterstützt. Andere Farbstoffe färben in wässeriger Lösung gar nicht, wohl aber in spirituöser Lösung (Hämatoxylin, Orange G). Säurefuchsin färbt in wässeriger Lösung gar nicht, in absolutem Alkohol löst es sich nicht, in verdünntem Spiritus gelöst färbt es ganz ungenügend, wohl aber, und zwar in sehr intensiver Weise in einer auch sehr dünnen Lösung in Methylalkohol.

Ganz eigenartig verhält sich Wasserblau: es färbt weder in wässeriger, noch in spirituöser, noch in methylalkoholischer Lösung. Setzt man aber der letzten Lösung, welche ziemlich blaßblau aussieht, eine geringe Menge einer starken Säure hinzu, so wird die Farblösung viel gesättigter blau und entwickelt nun eine geradezu unheimliche Farbkraft. Karmin färbt gar nicht, weder als Ammoniakkarmin, noch als Borax- oder Lithionkarmin. Ich habe mich jedoch nicht weiter um diesen Farbstoff gekümmert, da er mir, obgleich er früher ganz allgemein gebraucht wurde, keine Vorteile irgendwelcher Art versprach. Von den Farbstoffen, welche für sich allein eine Metachromasie ergeben, habe ich nur das Kresylviolett untersucht, aus dem einfachen Grunde, weil sich eine viel sicherere Metachromasie durch zugesetzte Hilfsfarbstoffe, wie unten beschrieben werden soll, erzielen läßt. Kresylviolett löst sich nur gering in Spiritus und

Methylalkohol; man braucht deshalb lange Zeit zum Färben. Ich habe z. B. Schnitte von Amphibienlarven eine ganze Nacht in konzentrierter methylalkoholischer Kresylviolettlösung liegen gelassen, in Wasser abgeschwenkt und dann eine sehr scharfe metachromatische Knorpelfärbung erhalten.

Eine sehr gute stahlgraue bis fast schwarze Strukturfärbung mit Hervorhebung der Kerne und einiger anderer Gewebsteile erhält man bei Anwendung verschiedener Alizarinfarben. Ich habe versucht: Alizarinsulfosaures Natron und Alizarin-Cyanin. Die erzielten Bilder ähneln sehr den Eisenhämatoxylinbildern, erreichen aber längst nicht deren Brillanz, besonders die einzelnen Kernbestandteile treten nur wenig scharf hervor. Bei vielen Untersuchungen genügen diese hiermit erzielten Hervorhebungen des Kernes, und ich wende die Alizarinfarben gern an, weil der Farbton ein sehr angenehmer ist, wie bei guten photographischen Platinpositiven. Alizarinfarben verlangen eine Imprägnierung des zu färbenden Gewebes mit irgendeinem Metallsalz, über deren Ausführung auch in den noch paraffinhaltigen Schnitten weiter unten gesprochen werden wird. Der konzentrierten Lösung eines Alizarins in Spiritus wird außerdem ein wenig Alkali und eine Spur Kalzium zugesetzt. Die Färbdauer beträgt 4 bis 24 Stunden; Differenzierung ist nicht nötig, aber zu Doppelfärbungen eignen sich Alizarine nicht sehr, weil sie schon in der Lösung recht empfindlich, ganz besonders gegen Säuren sind.

Gehen wir jetzt zu den Doppelfärbungen über, und zwar zunächst zu der in fast allen histologischen, botanischen und in sehr vielen pathologischen Untersuchungen gebrauchten verschiedenen Färbung von Kern gegen Plasma-Bindegewebe. Die Durchführung einer gut differenzierten Doppelfärbung an Schnitten, die von Paraffin befreit sind, ist eine wesentlich umständlichere, als die der einfachen Färbung, jedenfalls geschieht sie in den allermeisten Fällen derart, daß zuerst der Kern korrekt gefärbt und differenziert wird, und daß dann die Plasmabindegewebsfärbung nachfolgt. Versucht man eine solche zweizeitige Doppelfärbung in noch paraffinhaltigen Schnitten, so erlebt man regelmäßig Mißerfolge. Wie oben auseinandergesetzt, stünde für solche zweizeitige Doppelfärbeversuche, abgesehen von der noch genau zu besprechenden Eisenhämatoxylinfärbung, nur die Kernfärbung durch Methylenblau zu Gebote. Man könnte nun meinen, daß die, wie schon oben beschrieben, etwas diffuse Färbung, mit Hervorhebung der Kerne in einem intensiveren Farbtone, durch Weiterbehandlung mit Eosinlösung differenziert würde, wie es ja an

paraffinbefreiten Schnitten und an Blutausstrichen geschieht. In der Einleitung erwähnte ich jedoch schon, daß etwas ganz anderes geschieht: die Schnitte werden unregelmäßig fleckig, zeigen „Inseln" und erscheinen in der Hauptsache in derjenigen Farbe, welche zuletzt angewendet wurde. Ich habe mit immer gleichen Erfolgen, oder vielmehr Mißerfolgen die geschilderten Farbstoffe nacheinander probiert und will den Leser mit den manchmal eigentümlichen Störungen nicht langweilen. Die Anwendung der neutralen Farbstoffe ergab sofort einen wesentlichen Fortschritt.

Das Paradigma eines solchen neutralen Farbstoffes ist Methylenblau-Eosin. Ich will der Vollständigkeit halber die sicher jedem Leser dieser Zeitschrift bekannten Tatsachen hier kurz wiederholen. Methylenblau ist eine schwache Base, Eosin eine schwache Säure. Beide sind sowohl in Alkohol, wie in Wasser gut löslich. Bringt man beide Farben in bestimmtem Verhältnis (1000 cc 1prozentiger Eosinlösung mit 882 cc 1prozentiger Methylenblaulösung) in Wasser zusammen, so ist die Mischung zunächst klar violettblau. Nach wenigen Minuten bildet sich aber eine erst feinere Trübung (Schwebefällung), dann ein leicht flockiger dunkler Niederschlag, der sich in Alkohol mit violettblauer Farbe löst und ein neutrales Salz, „eosinsaures Methylenblau", darstellt. Gibt man eine solche alkoholische Lösung in reichlich Wasser, so geschieht dasselbe, wie beim Zusammengießen von oben genannten zwei wässerigen Lösungen: die anfangs klare Lösung zeigt schnell eine äußerst feine Schwebefällung, endlich einen Niederschlag. Im Zustande der Schwebefällung entwickelt nun dieses neutrale Färbesalz eine starke Farbkraft für Blutausstriche und für Schnitte, die von Paraffin befreit sind, aber an paraffinhaltigen Schnitten war die Farbkraft dieser Schwebefällung gleich Null. Diese Farbkraft trat aber sofort in Erscheinung, als ich die paraffinhaltigen Schnitte mit einer starken, fast konzentrierten Lösung dieses neutralen Farbstoffsalzes in Alkohol behandelte, dann sofort in reichlichem Wasser schwenkte, das Wasser nach wenigen Minuten einwirken ließ, dann trocknete und durch Xylol in Balsam brachte. Ich hielt mich nicht länger bei dem einfachen Methylenblau-Eosin auf und machte weitere Versuche mit Azur-Eosin. Daß das Azur in chemischer Beziehung dem Methylenblau sehr ähnlich ist und aus ihm hervorgeht, wenn letzteres längere Zeit in Alkali- oder Boraxlösung erwärmt wird, daß es aber vor dem Methylenblau einige wertvolle metachromatische Fähigkeiten voraushat, ist hier nicht weiter auseinander zu setzen. Ich hoffte durch die Anwendung des Azur-

Eosins nicht bloß eine bedeutende Vereinfachung der Schnittfärbung zu erhalten, sondern ich erwartete auch, daß neue wichtige Farbeffekte an Gewebsschnitten herauskamen, da den äußerst empfindlichen Azur-Depots eine ganze Reihe eingreifender Bäder erspart bleiben konnte. Diese Hoffnung hat sich in allerbester Weise erfüllt, allerdings galt es noch eine Klippe zu umschiffen: das reine Azur-Eosin, wie auch das reine Methylenblau-Eosin ergab in dieser Verwendung Bilder, in denen die Eosinwirkung stark überwog. Giemsa hatte dieselbe Erfahrung auch an Blutausstrichen gemacht, wenn er diese mit einer Schwebefällung von Azur-Eosin behandelte, und hatte deshalb in seiner altbekannten Lösung für die Romanowsky-Färbung reichlich die basische Komponente Methylenblau zugesetzt. Trennt man seine Vorschrift

Azur II - Eosin 6·0
Azur II 1·6

in ihre Grundbestandteile, so ergibt sich:

erste basische Komponente: Azur:	2·4
zweite basische Komponente: Methylenblau:	2·4
gesamte basische Komponente:	4·8

saure Komponente: Eosin: 2·8.

Methylenblau (und jedenfalls auch Azur) hat das Molekulargewicht: 320, Eosin: 720 (abgerundet), als zweibasische Säure bindet Eosin 2 Äquivalente Methylenblau resp. Azur, 9 Gewichtsteile Eosin treten also mit 8 Gewichtsteilen Methylenblau resp. Azur zu einem neutralen Salz zusammen, obige 2·8 Eosin hätten also nur 2·5 Methylenblau resp. Azur zur Bindung nötig. Es ist also in der Giemsa-Lösung fast das Doppelte der basischen Komponente enthalten, als zur Bindung des Eosins nötig wäre. Mit dieser Farbstofflösung in Wasser als Schwebefällung ergeben sich, wie altbekannt, die prächtigen Effekte bei Blutausstrichen. Für paraffinhaltige Schnitte war aber auch diese Zusammensetzung noch zu sauer. Das Bild war durch Überwiegen der Eosinfärbung flau und zu sehr rosa. Da erinnerte ich mich an eine Vorschrift Giemsas; man sollte, um eine noch entschiedenere Färbung der basophilen Ausstrichbestandteile zu erhalten, der Farblösung etwas Alkali hinzufügen. Ich versuchte erst einen ähnlichen Weg: Ich behandelte einen aus der konzentrierten Giemsa-Lösung kommenden Schnitt nicht mit reinem Wasser, sondern mit ganz leicht alkalischem. Es zeigte sich ein wesentlicher Unterschied:

Bei Auswaschung in reinem Wasser waren die zarten Farbstoffwolken blau gefärbt, wie eben die wässerige Lösung der Giemsa-Komposition aussieht. In leicht alkalischem Wasser waren sie rosa, mit anderen Worten, es wurde mehr Eosin herausgelöst, als Methylenblau. Die Endresultate waren geradezu entzückend schön, eine haarscharfe, ins feinste abgestufte verschiedene Färbung der einzelnen Gewebsbestandteile in reinem Blau (Kerne), reinem Rot (Bindegewebe, Mastzellengranula), reinem Orange (Erythrozyten) und in vielerlei, aber wohlgemerkt, in ganzen Präparaten in durchaus gleichmäßigen, streng-geschiedenen Übergangsfarben, die mancherlei anderen Gewebsteile (Knorpel, Schleim, Muskelfasern, Drüsensekrete). Trotz der vielen verschiedenen Farbtöne war das Bild doch nicht überladen und schreiend, sondern man kann fast sagen künstlerisch schön. Ich hatte bis dahin angenommen, und auch Giemsa scheint bis dahin angenommen zu haben, daß der Alkalizusatz zu seiner Farblösung eine Art Beize für das Methylenblau resp. Azur sei. Eine Reihe weiterer Versuche überzeugte mich jedoch, daß diese Ansicht wenigstens für die Färbung noch paraffinhaltiger Schnitte, wahrscheinlich auch für die übliche Giemsa-Färbung von Gewebsausstrichen nicht die allein maßgebende sein könnte. Ich benutzte der geringeren Kosten wegen den Jennerschen Farbstoff, ein neutrales Methylenblau-Eosin, löste ihn bis zur vollen Konzentration in Spiritus, gab etwas Spiritus noch hinzu, um die unvermeidliche Verdunstung auszugleichen, übergoß die paraffinhaltigen Schnitte für 10 bis 20 Minuten damit und spülte dann so lange in leicht alkalischem Wasser ab, bis der Schnitt deutlich blauer wurde, als er vorher war. Der Erfolg war ganz gut. Setzte ich der spirituösen Jennerschen Lösung eine gewisse Menge spirituöser Methylenblaulösung hinzu, so kam der Schnitt immer mehr blau getont aus der Farbflotte, bis er bei einem gewissen Methylenblaugehalte überhaupt keiner Korrektur durch alkalisches Wasser mehr bedurfte, sondern nach einfacher Abspülung in reinem Wasser seine ganze Schönheit entfaltete und entschieden feuriger gefärbt sich darstellte. Bei geringer Überschreitung dieses „normalen“ Methylenblauzusatzes zur Jennerschen Lösung erschien der Schnitt jedoch rein blau, wenn auch die einzelnen Gewebsteile sich in sehr fein abgestuften Intensitätsunterschieden ihrer blauen Farbe präsentierten.

Durch ein saures Waschwasser konnte eine blasse Doppelfärbung dann noch herausgeholt werden. Setzte ich anderenteils der Kontrolle halber der spirituösen Jennerschen Lösung in steigendem Maße eine spirituöse Eosinlösung hinzu, so erschien der Schnitt rein rot, aller-

dings auch mit sehr zufriedenstellenden Intensitätsunterschieden. Je mehr Eosin genommen war, desto blasser wurde die durch alkalisches Waschwasser noch herauszuholende Doppelfärbung. Dieses Verhalten der Farbstoffe machte es mir wahrscheinlich, daß es sich hierbei nicht um einen Beizeinfluß des Alkalis handelt, wie er ja zweifellos beim Löfflerschen Methylenblau vorhanden ist, daß vielmehr eine physikalische Überlagerung mit der überschüssigen Farbe stattfindet. Der eigentliche Farbeffekt des neutralen Farbstoffes ist auch dann vorhanden, wenn die basische oder saure Komponente in großem Überschuß vorhanden ist. Aber der überschüssige Farbstoff inkrustiert gewissermaßen das zurückbleibende Doppelfärbungsbild. Diese Kruste wird gelöst durch alkalisches Wasser, wenn sie aus dem sauren Eosin besteht, durch saures Wasser, wenn sie aus dem basischen Methylenblau besteht, während in nur geringem Grade das im Schnitte vorhandene Methylenblau durch Alkali, das Eosin durch Säure ausgelaugt wird.

Die Tatsache, daß das neutrale Farbstoffsalz Methylenblau-Eosin in Alkohol klar und haltbar löslich war, und daß bei der Färbung noch paraffinhaltiger Schnitte gar nicht dieses neutrale Salz, sondern ein reichlich basisches Farbstoffgemisch die günstigsten Wirkungen erzielte, brachte mich auf den Gedanken, daß sich eine weitere Vereinfachung der Farbflottenherstellung ermögliche: ich konnte nachweisen, daß der umständliche Weg der bisherigen Darstellung des neutralen Farbstoffsalzes: Lösung des einzelnen Farbstoffes in Wasser, Zusammengießen der beiden Lösungen in bestimmtem Verhältnis, Absetzenlassen, Filtrieren, Waschen des Niederschlages und Lösung des Filterrückstandes in Spiritus nicht mehr nötig war.

Beide Farbstoffe, sowohl Methylenblau wie auch Eosin, lösen sich in reichlicher Menge in Alkohol. Bringt man die entsprechenden Lösungen alkoholischer konzentrierter Lösungen zusammen, so hat man dieselbe Farbflotte, als wenn man nach vorgenanntem Rezepte den Niederschlag aus Wasser in Alkohol löst. — Methylenblau medicinale löst sich zu 3 pro Mille in Methylalkohol, Eosin B A zu 7·5 pro Mille. Bringt man 6 cc dieser 7·5promilligen Eosinlösung zusammen mit 13 cc dieser 3promilligen Methylenblaulösung in Methylalkohol, so erhält man eine violettblaue klare haltbare Lösung, welche genau einer Lösung von 0·084 g Jennerschen Farbstoffes in 19 cc Methylalkohol entspricht, und genau wie diese letztere Lösung, mit Wasser zusammengeschüttet, die oben beschriebene Schwebefällung und später einen dunklen Niederschlag mit ungefärbt bleibendem Wasser ergibt.

Diese neutrale Lösung ist aber, wie schon früher auseinandergesetzt wurde, zur Färbung der nicht von Paraffin befreiten Schnitte ungeeignet. Man muß der Farbflotte reichlich die basische Komponente Methylenblau zusetzen, und zwar für die hier interessierenden Färbungen in noch höherem Maße, als sie in der Giemsa-Lösung enthalten ist, weil eben infolge der Osmosewirkung der hauchdünnen Paraffinschichten über jedem Gewebsbestandteile sich die Aufnahmefähigkeit für Farben auch relativ ändert. Das beste Verhältnis, das sich für tierische Gewebe je nach dem Alter, der Fixierung und sonstigen Begleitumstände in geringem Grade, für botanische Objekte jedoch in sehr weitgehendem Maße ändert, ist: 2 Gewichtsteile trocknes Methylenblau medicinale zu knapp 1 Gewichtsteil trocknem Eosin B A. Bei Versuchen, für eine bestimmte Untersuchungsreihe die günstigste Kombination herauszufinden, ist es natürlich viel angenehmer, wenn man sich, statt die vielen kleinen Mengen der trotz aller Vorsicht die Wage verschmierenden Farbpulver abzuwägen, Vorratslösungen von bestimmtem Gehalte herstellt und dieselben im Meßglase oder mit der Tropfpipette mischt. Für die fast konzentrierte 7·5promillige Eosinlösung und die ebenso fast konzentrierte 3promillige Methylenblaulösung wäre dann das beste Mischungsverhältnis für tierische Gewebe: 5 cc Methylenblaulösung zu 1 cc Eosinlösung. Für botanische Zwecke, die ich aber nur ganz nebenher betrieben habe, ist das Verhältnis ein ganz entgegengesetztes: 1 cc Methylenblaulösung zu 3 bis 5 cc Eosinlösung, jedoch gedenke ich hierüber noch weitere Untersuchungen anzustellen.

Auf Grund dieser Erfahrungen und Überlegungen habe ich nun selbst eine Reihe anderer Farbstoffkompositionen versucht. Daß die Möglichkeiten solcher Kompositionen fast unbeschränkt sind, liegt auf der Hand. Es hat aber wenig Zweck, sie alle mit ihren Erfolgen und Mißerfolgen hier einzeln aufzuführen, denn ich beabsichtige ja gar nicht, über alle möglichen geplanten Spezialuntersuchungen hier die fertigen Rezepte zu geben, möchte es vielmehr den Forschern überlassen, für ihre besonderen Zwecke aus der Riesenzahl von Farbstoffen diejenigen herauszusuchen, welche schon bekannte oder noch zu findende besondere Affinitäten für begrenzte Gewebsarten haben. Da eine distinkte Kernfärbung wohl meistens erwünscht ist, so erinnere ich wiederholt an die oben genauer auseinandergesetzte Erfahrungstatsache, daß die basische kernfärbende Komponente für tierische Gewebe in etwa doppelter Menge vorhanden sein muß, als ihrem Molekulargewicht entsprechend, und mit Rücksicht darauf, ob

die saure Komponente ein- oder mehrbasisch ist, nötig wäre, ein neutrales Farbsalz zu bilden. Die allermeisten solcher neutralen Farbsalze sind in ihrem alkoholischen Lösungsmittel auch soweit löslich, daß man die einzelnen Komponenten in konzentrierter alkoholischer Lösung zusammengeben kann, aber nicht alle! So muß man einer Mischung von 4 cc konzentrierter spirituöser Lösung von Kresylviolett mit 1 cc ebensolcher Eosinlösung etwa 10 cc Spiritus zusetzen, damit sich der gebildete Niederschlag löst. Pikrinsäure und Säurefuchsin geben mit sehr vielen blauen, grünen und violetten Farbstoffen ganz unlösliche Niederschläge, ebenso sind die Safranine recht empfindlich. Dann möchte ich nochmals darauf aufmerksam machen, daß manche sauren Farbstoffe (Säurefuchsin, ganz besonders Wasserblau) nur in angesäuerter Lösung gut angreifen, während andere, wie Alizarine, nur in spirituösen Lösungen mit ganz geringem Kalzium- und Alkaligehalt niederschlagsfrei färben. Auch muß ich nochmals mit besonderem Nachdruck darauf hinweisen, daß es wenig Zweck hat, an den einmal erzielten Färbungen der nicht von Paraffin befreiten Schnitte mit allen möglichen Differenzierungsflüssigkeiten herumzuprobieren. Die Erfolge bestehen wohl immer in Flecken, herdweisen Abblassungen und staubfeinen bis grobkristallinischen Niederschlägen. Was erzielt werden soll, muß sozusagen mit einem Guß herausgeholt werden, geringe Änderungen des Farbtones durch schwaches alkalisches oder ganz schwach saures Waschwasser sind jedoch mitunter ganz empfehlenswert. Zur Kostenersparnis bemerke ich, daß es in den allermeisten Fällen genügt, den gewöhnlichen 90prozentigen Brennspiritus als Lösungsmittel zu wählen, für Pikrinsäure ist er aber nicht geeignet, sie gibt, in Brennspiritus gelöst, nach wenigen Minuten einen Niederschlag; woran das liegt, weiß ich nicht. Wässerige Lösungen möchten überhaupt gar nicht erst versucht werden, denn die meisten „neutralen“ Mischungen von wasserlöslichen Farbstoffen ergeben im Wasser Fällungen, während spirituöse Lösungen meistens klar sind. Zur Technik solcher Versuche empfehle ich folgendes: Ich habe mir von W. P. Stender, Glasschleiferei, Leipzig, die dort vorrätigen Glasringe (p. 6 seines Preisverzeichnisses F) verschafft. Diese Glasringe tauche ich in leicht überhitztes Paraffin und bringe sie auf die Objektträger so, daß sie um die aufgeklebten Schnitte eine spiritusdichte Kammer bilden. In diese Kammer bringe ich mit einer Pipette die vorher gemischte Farblösung und decke die Kammer mit einem erwärmten Glasplättchen zu, welches durch Schmelzen der auch am oberen Rande noch erhaltenen Paraffinschicht und nachfolgendem Er-

starren einen absolut dampfdichten Abschluß bildet. Nach $^1/_4$ bis 24 Stunden, je nach Art der gewählten Farblösung, wird der Deckel abgesprengt, die Farblösung weggegossen (kann aber auch wieder verwendet werden) und die Kammer mit reinem oder leicht alkalischem Wasser oder ganz leicht saurem Wasser beschickt zur Differenzierung und Dissoziation des Farbsalzes; dann wird der Ring mit einem dünnen Messerchen abgehoben, der ganze Objektträger in klarem Wasser geschwenkt, mit Fließpapier der Schnitt abgetrocknet; dann läßt man den fast senkrechtstehenden Objektträger einige Minuten trocknen und kann ihn so beliebig lange aufbewahren. Zur Fertigstellung wird der verbleibende Paraffinrest des Glasringes abgekratzt, der Objektträger direkt durch Xylol gebracht und wie üblich mit Kanadabalsam überschüttet und mit Deckglas versehen. Ich brauche wohl nicht zu betonen, daß ein planloses Darauflosprobieren nur selten zu Erfolgen führen wird. Den Forschern, die sich auf diesem, große Erfolge versprechenden Gebiete betätigen wollen, empfehle ich das Studium der Artikel: „Neutrale Farbstoffe und Farbstoffgemische“ und „Neutrale Färbungen, regressive“ in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik und der dort zusammengestellten Literatur über Farbchemie für mikroskopische Bedürfnisse.

Ich selbst habe nur wenig andere Kombinationen versucht und gebe in folgendem eine kleine Auswahl der von mir für praktisch gefundenen. Ich habe mir die Farbstoffe einzeln in konzentrierter Spirituslösung vorrätig gehalten, teils in 96prozentigem Spiritus, teils in 90prozentigem Brennspiritus, teils in Methylalkohol, habe dann zwei dieser Farbstofflösungen in verschiedenem Verhältnis gemischt, immer nur kleine Mengen, und die Schnitte in den oben beschriebenen Glaskammern verschieden lange gefärbt. Von den vielen Zusammenstellungen boten bei meinen Präparaten eigentlich nur drei einige Vorteile vor der Methylenblau-Eosin-Mischung.

A) Kresylviolett-Lösung . . . . 4 cc
Eosin B A-Lösung . . . . 1 „

Der gebildete Niederschlag löst sich bei Zusatz von 10 cc Spiritus, Farbdauer $^1/_2$ Stunde; Erfolg: sehr eigenartige Differenzierung des Zellplasmas in verschiedenen Tönungen.

B) Kresylviolett-Lösung . . . . 3 cc
Orange G-Lösung . . . . 1 „

Farbdauer 12 Stunden für Studien am jungen Knorpel.

Eine höchst angenehme Überraschung bot mir folgende Mischung:

C)	Konzentrierte spirituöse Lösung von Fuchsin	5 cc
	Ditto von Wasserblau	20 „
	Spiritus	50 „
	Salzsäure	3 Tropfen

Trotzdem hier nur zwei Farbstoffe als Grundlage vorhanden sind, ist die damit erzielte Metachromasie direkt verblüffend, tritt aber nur an Präparaten hervor, die in Kaliumbichromatformalin fixiert sind. Ich habe die Fixierung folgendermaßen vorgenommen: einen Tag in 4- bis 5prozentiger Formaldehydlösung, hergestellt durch Zugießen von 1 cc käuflichem 40prozentigem Formalins zu 6 cc Wasser, dann für 8 Tage in $3^1/_2$prozentige wässerige Lösung von Kaliumbichromat, ganz kurzes Auswaschen, dann in steigendem Alkohol im Dunkeln 4 Tage nachgehärtet. Es treten bei Präparaten, welche vielerlei verschiedene Gewebe enthalten, so ziemlich alle Regenbogenfarben auf, auch gelb! und was ich gegenüber der Kritik betonen möchte, im ganzen Schnitte sind die einzelnen verschiedenen Gewebsarten streng in überall genau innegehaltenen Farben getönt. Es ist keineswegs eine sogenannte „wilde" Metachromasie. Für Forschungen auf dem Gebiete der Drüsensekretion, Hautgiftdrüsen der Amphibien, des zentralen Nervensystems, der Retina, der Muskel- und Knorpelentwicklung verspreche ich mir neben der weitgehenden Erleichterung der Arbeit einen guten Fortschritt. Die, man kann sagen, künstlerische Schönheit solcher Gewebsschnitte mit ihrer haarscharfen farbigen Zeichnung wird jedes Mikroskopikers Auge entzücken. Es kommen bei Anwendung dieses Farbverfahrens auch besondere Überraschungen zutage. Schnitte durch den Darm einer Salamanderlarve in Trichloressigsäure-Formol-Luzidol, wie weiter unten beschrieben, fixiert, zeigten den halbverdauten Darminhalt gelborange gefärbt. Solche gelborangenen Teilchen konnte man nun auch in ganz bestimmten Stellen in der Tiefe der Darmzotten und in der Submucosa des Darmes nachweisen, eine Erscheinung, die vielleicht Erfolge bei Resorptionsversuchen verspricht.

Die überraschend guten Erfolge der Methylenblau-Eosin- und der Fuchsin-Wasserblau-Methode legten den Gedanken nahe, auch dreifache Färbungen zu versuchen. Vorbilder dazu sind ja in dem längst bekannten Triazid und in ähnlichen Zusammenstellungen zur Färbung der von Paraffin befreiten Schnitte vorhanden. Außergewöhnliche Erfolge habe ich mit verschiedenen solcher Mischungen nicht gehabt, glaube aber bestimmt, daß für manche Spezialuntersuchungen sich

ergebnisreiche Zusammenstellungen finden lassen werden. Ich habe ganz hübsche Bilder erhalten mit folgenden Mischungen: Konzentrierte Spirituslösung von

a) Methylenblau . . . . 3—5 cc
Safranin . . . . 3 „
Orange G . . . . 3 „

Farbdauer $^1/_4$ Stunde. —

b) Methylenblau . . . . 16 cc
Orange G . . . . 3 „
Säurefuchsin . . . . 2 „
Schwefelsäure . . . . einige Tropfen.

Farbdauer 24 Stunden.

Für weitere Versuche würde ich vorschlagen, das Orange G durch einen der zahlreichen aus verschiedenen Gruppen der Anilinfarben stammenden gelben Farbstoffe zu ersetzen.

c) Triazid H (Grübler) konzentriert in Methylalkohol gelöst, Farbdauer 1 Stunde, für chitinhaltige Schnitte.

Ich gebe ganz absichtlich keine Übersicht über die einzelnen Farbtöne, welche ich durch die Doppel- und dreifache Färbung erzielt habe. Die Aufzählung würde doch nur bei der meist sehr großen Zahl feiner Farbunterschiede ganz unvollkommen sein, außerdem kommen sie nur bei Spezialstudien in Betracht, und da handelt es sich meistens darum, für einzelne, ganz besonders gewählte Gewebsteile irgendwelche Farbunterschiede zu finden, die durch neue Mischungen noch hervorgehoben werden können.

d) Die van Gieson-Methode zur Färbung des Bindegewebes bietet mehrfache Schwierigkeiten. Nachfärbungen, wie sie bei den bisherigen Methoden üblich sind, ergeben meist Überlagerungen in rot oder gelb, bei Eisenhämatoxylinpräparaten einen schmutzigen Ton der Kerne. Man muß entweder kernfärbende Anilinfarben direkt mit Pikrinsäure und Säurefuchsin kombinieren, dazu eignet sich aber Methylenblau nicht, jedoch Methylgrün und Kresylblau. Die bisherigen Erfolge haben mich aber nicht befriedigt. Ich gedenke in ruhigeren Zeiten genau und scharf zeichnende Vorschriften geben zu können. Soviel steht schon jetzt fest, daß man bei solchen Zusammensetzungen sehr viel von dem Kernfarbstoffe und von der Pikrinsäure auf sehr wenig Säurefuchsin nehmen muß.

Diejenige Farbmethode für die tierische mikroskopische Anatomie, welche im letzten Jahrzehnte wohl die allergrößte Rolle gespielt hat und

durch die gestochene Schärfe der Bilder und durch das Hervortreten allerfeinster Strukturen zu den wertvollsten Ergebnissen geführt hat, ist die Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain neben ihren mehrfachen Modifikationen. Sie hat nur den einen Fehler, den ihr Autor Heidenhain selbst klar erkannt und ausgesprochen hat: sie ist eine rein regressive Färbung, mit anderen Worten, sie ist in gewissen Grenzen von der geringeren oder weiter durchgeführten Differenzierung abhängig, also der Willkür unterworfen. Eine Methode zu finden, welche die zahlreichen Bäder, die der Schnitt bis zur Vollendung zu durchwandern hat, auf wenige einschränkt, und besonders gleichzeitig der Methode das Odium der Regressivität ganz oder zum größten Teile nimmt, war mein Bemühen, und ich darf sagen, daß ich dieses Ziel erreichen konnte. Ich will den Leser nicht die vielverschlungenen Wege führen, welche ich durchwandern mußte, um ans Ziel zu gelangen. Die Lösung des Problems bestand darin, daß weder Eisenlösungen noch Hämatoxylinlösungen in Wasser sich als reaktionsfähig auf noch paraffinhaltige Schnitte erwiesen, soviel ich ihrer anwendete, daß mit Einführung von spirituösen Lösungen aber sofort der Erfolg da war. Die höchst einfache Technik ist nun folgende:

Die aufgeklebten, noch paraffinhaltigen Schnitte kommen für 2 bis 12 Stunden in eine Lösung von Eisenchlorid, 3 Prozent, in Spiritus (Brennspiritus genügt), dann nach flüchtiger Abspülung in eine $2^1/_2$prozentige Lösung von dunklem Hämatoxylin in Spiritus für 2 bis 12 Stunden, dann wieder, nach flüchtiger Abspülung in Brennspiritus, in die Differenzierungslösung: $^1/_{10}$- bis $^1/_4$prozentige spirituöse Eisenchloridlösung, letztere hauptsächlich dazu dienend, die auf der Oberfläche des Schnittes und auf dem Paraffinmantel befindlichen schwachen Niederschläge zu entfernen; nur wenn die Schnitte die lange Badezeit durchgemacht haben, dient sie zur inneren Differenzierung der Gewebe selbst. Es folgt nochmals kurzes Abspülen in Brennspiritus, dann trocknen, Xylolbad, Kanadabalsam. Je nach der Dauer der Einwirkung von Eisenchlorid und Hämatoxylin und nach der Intensität der Differenzierung entstehen verschiedenartige Bilder: bei kurzer Badezeit und leichter Differenzierung sind alle Einzelheiten vorhanden. Die Unterschiede sind jedoch schwach. Bei sehr langer Badezeit und kräftiger Differenzierung sind viele feinste Einzelheiten hinweggelöst, aber die verbleibende Strukturzeichnung ist sehr intensiv und zeigt scharfe Unterschiede, sie ist das Bild der bisher üblichen Heidenhainschen Imprägnierung der von Paraffin vor dem Färben befreiten Schnitte. Zwischen darin liegt (wie bei der photo-

graphischen Aufnahme zwischen überbelichteten und unterbelichteten Platten die richtige Expositionszeit liegt) eine Zeitdauer für die beiden Bäder, welche ohne nennenswerte Differenzierung der Gewebe selbst ein harmonisches, gut durchgearbeitetes, mit allen Feinheiten und genügend kräftigen Intensivitätsunterschieden versehenes Bild liefert; diese Zeitdauer wechselt aber selbstverständlich nach der Art des Objektes und nach der Art der Fixierung, es ist aber gar nicht schwer, durch Probefärbungen das Richtige zu treffen, wenn man die Regel im Auge behält: Schwache Farbbäder und kurze Badedauer geben mit sehr leichter Differenzierung weiche, „überlichtete", detailreiche Bilder, starke Farbbäder und lange Badedauer erfordern immer längere innere Differenzierung und ergeben harte, „unterbelichtete" Bilder. Will man die van Gieson-Färbung mit der Eisenhämatoxylinfärbung kombinieren, so erhält man keine guten Erfolge, wenn man nachfärbt, die Kerne erhalten dann einen unangenehmen braungelben Farbton durch die Pikrinsäure. Man muß vielmehr Differenzierung und Nachfärbung in einem Bade vornehmen und aus diesem Grunde sehr scharf in Eisenchlorid und Hämatoxylin vorfärben. Die Lösung könnte dann folgende Zusammensetzung haben: Konzentrierte spirituöse Lösungen von

Eisenchlorid (25 Prozent)	4 cc
Säurefuchsin (in Methylalkohol)	1 „
Pikrinsäure	10—20 „
Spiritus	100 „

Die Schnitte sind nach der Passage durch das Hämatoxylin oft sehr gelockert und dem Abschwimmen nahe; falls nicht die japanische Methode genügt zur sicheren Befestigung, empfehle ich, wie schon erwähnt, ein längst bekanntes Verfahren: Die Schnitte auf dem Objektträger werden mit ganz dünnem Kollodium übergossen, den Farbbädern muß dann $^1/_{10}$ Volumen Wasser zugesetzt werden, falls sie mit zu starkem Alkohol angesetzt sind. So einfach sich hiernach der Farbvorgang der Eisenhämatoxylinfärbung noch paraffinhaltiger Schnitte gestaltet, so läßt er sich doch auf zweierlei Arten noch vereinfachen. Weigert hat den Weg dazu gezeigt. Man bringt die Schnitte in ein Gemisch von Eisenchlorid und Hämatoxylin, hergestellt durch Zusammengießen von etwa gleichen Teilen 3prozentiger Eisenchloridlösung und $2^1/_2$prozentigem Hämatoxylin in Spiritus. Es wird sich durch weitere Versuche jedenfalls noch ein günstigeres Mischungsverhältnis herausfinden lassen. Die Farbdauer beträgt 12 bis 24 Stunden. Es ist nur eine ganz geringe Nachhilfe mit oberflächlicher Differenzierung nötig.

Ein weiterer Weg zur Abkürzung ist folgender: Man verlegt die Imprägnierung mit Eisen nicht in den Schnitt, sondern in den Gewebsblock gleich bei der Fixierung. Sie schädigt die Fixierung nicht, berichten doch zwei namhafte Forscher von besten Erfolgen der Anwendung des Eisenchlorids als Fixierungsmittel. FOL nennt das Eisenchlorid ein bisher unübertroffenes Fixierungsmittel zur naturgetreuen Erstarrung von Wimper- und Pseudopodienbildungen, und PFEIFFER VON WELLHEIM bedient sich seiner bei den so überaus empfindlichen Süßwasseralgen. In wässeriger Lösung dringt Eisenchlorid aber nur schwer ein. Ich nahm an, und konnte es als Tatsache nachweisen, daß es in spirituöser Lösung sogar sehr rasch und gleichmäßig eindringt, und diese Erfahrung brachte mich auf den Gedanken, die Fixierung überhaupt mit spirituösen Lösungen zu versuchen. Ein tieferliegender Grund für solche Versuche war ja auch hier das Streben, den Fixierungsvorgang sowohl der Zeit nach, als ganz besonders der Umständlichkeit nach zu vereinfachen, da ich mich in meinen Verhältnissen immer nur kurze Zeiten meinen Präparaten widmen konnte. Aus den zahllosen Theorien über den Fixierungsvorgang, wie sie die große Literatur herüberbringt, wählte ich mir folgende allseitig anerkannte Tatsachen heraus. Gute Kernfixierer sind die starken Säuren. Ich wählte Trichloressigsäure, gute Plasmafixierer sind Chromsalze und Formaldehyd; der Alkohol wirkt ebenfalls gut fixierend, und nicht schrumpfend als absoluter Alkohol, noch besser als Methylalkohol, deshalb wählte ich letzteren, und aus praktischen Gründen noch das ganz ähnliche Azeton. Nach EHRLICH ist eine gute Fixierung gleichbedeutend mit einer Oxydierung der Gewebe. Ich wählte sein zu diesen Zwecken empfohlenes Luzidol, dazu tritt als letztes Mittel, aus oben angeführten Gründen, das Eisenchlorid. Aus diesen Stoffen stellte ich mir mehrere Fixierlösungen her, und zwar aus vorrätig gehaltenen Stammlösungen:

Trichloressigsäure gelöst zu 5 Prozent in Methylalkohol	= A
Trichloressigsäure gelöst zu 5 Prozent in Azeton	= B
Luzidol gelöst zu 8 Prozent in Azeton	= C
Formaldehyd gelöst zu 50 Prozent in Methylalkohol[1] (SCHERING, Berlin)	= D
Eisenchlorid gelöst zu 25 Prozent in Alkohol absol.	= E

[1]) Es ist dies nicht etwa eine Mischung gleicher Volumina Methylalkohol und 40 Prozent Formaldehydlösung in Wasser, wie letztere als „Formalin“ und „Formol“ käuflich ist, sondern eine Lösung von trockenem Formaldehydgas in der gleichen Gewichtsmenge Methylalkohol, welche mir

Sehr brauchbare Fixierlösungen ergaben sich nun daraus mit folgenden Mischungen:

I.		II.		III.	
A	15 cc	B	10 cc	A	15 cc
D	1 „	C	12 „	D	1 „
Methylalkohol	9 „	D	1 „	E	1 „
		Azeton	2 „	Methylalkohol	8 „

Für Azurfärbungen muß jede Säure vermieden werden. Ich fixiere deshalb die dazu bestimmten Blöcke nach Ehrlich in Luzidol zu 4 bis 6 Prozent in Azeton gelöst. Für die vorgenannte Fuchsin-Wasserblau-Doppelfärbung ist eine säurefreie Chromfixierung notwendig, die von mir gewählte Methode ist Seite 280 beschrieben. Die Erfolge, die ich mit diesen fünf Fixierungsmethoden hatte, haben mich veranlaßt, von allen anderen, besonders dem Sublimat abzusehen. Die Gerinnungsbilder sind bei allen vier der wasserfreien Fixierungslösungen so zart, wie bei den besten der bis jetzt üblichen. Jede Zellart zeigt ihr besonderes von anderen Zellarten meist verschiedenes Gerinnungsbild, so daß man grobe Kunstgebilde ausschließen kann, und die Schrumpfungen bleiben in den engsten, bei Paraffineinbettungen ja unvermeidlichen Grenzen. Wenn ich auch an älteren, auf andere Weise fixierten Blöcken mit meiner direkten Paraffinschnittfärbung ganz gute Resultate hatte, so glaube ich doch bemerkt zu haben, daß ein großer Teil der von mir erzielten Erfolge durch die Anwendung obiger wasserfreier Fixierlösungen bedingt war. Ich habe meist 24 Stunden fixiert. Die in azetonhaltigen Lösungen liegenden Gewebsblöcke kommen dann in mehrfach gewechseltes Azeton, die in nur methylalkoholischen Lösungen fixierten in mehrfach gewechselten Methylalkohol, in Gefäße, deren Boden mit einer Schicht Schlämmkreide und geglühtem Kupfervitrol bedeckt ist. Die weitere Überführung in Xylol oder Chloroform und Paraffin bietet keine Besonderheiten. Die ausschließliche Verwendung wasserfreier Lösungen bietet nun die Möglichkeit eines sehr praktischen Verfahrens. Ich stecke die frischen Gewebsstücke in Gelatinekapseln, wie sie in verschiedenen Größen für geringes Geld in den Apotheken zu haben sind; mit einem feinen kaustischen Stichbrenner, in Ermangelung dessen mit einer mittelstarken glühenden Nadel, werden eine Zahl Löcher hineingebrannt oder gestochen, und zwar so, daß der runde Boden des langen Röhr-

die Firma Schering dankenswerterweise kostenlos herstellt, die aber noch nicht im Handel ist.

chens sehr reichlich durchlöchert ist, während der runde Boden des kurzen Deckelröhrchens von Löchern frei bleibt. Die Seitenwände tragen beliebig viele Löcher. Zu dem Gewebsstück wird ein schmaler Papierstreifen mit der Signatur gesteckt, und nun wandert diese gefüllte Kapsel von Gefäß zu Gefäß. Die Flüssigkeiten dringen augenblicklich in das Innere der Kapsel ein, faßt man aber das Röhrchen mit einer Hakenpinzette an dem undurchlöcherten Deckel, so bildet sich unter dem Deckel eine Luftblase beim Einlegen in die Flüssigkeiten, und das Ganze schwimmt in senkrechter Haltung. Das Gewebsstück schwebt frei mitten in der Flüssigkeit. Die Gelatine wird dabei gleich mit gehärtet. Bei wasserhaltigen Lösungen würde sie quillen und zerfließen. Auf diese Weise kann man sehr an den immerhin kostspieligen Nachhärtungsflüssigkeiten sparen. Es genügen je drei große Azeton- und Methylalkoholgefäße, in welche in gleichbleibender Reihenfolge die gewebshaltigen Röhrchen überführt werden. Glaubt man aber das letzte nicht mehr als genügend rein ansehen zu müssen, so entleert man Nummer 1 und stellt es frisch gefüllt an die letzte Stelle. Für Azurpräparate muß eine besondere Azetonreihe angelegt werden, um jede Säure zu vermeiden.

Die Färbung einer großen Zahl von Objektträgern geschieht in den bekannten Farbtrögen mit Rillen. Da aber fast ausschließlich spirituöse Flüssigkeiten angewendet werden, muß man für sehr gute Abdichtung sorgen. Ich habe mir deshalb in einer Glasschleiferei die oberen Ränder eben und glatt schleifen lassen und decke die Kästen mit Glasplatten zu, nachdem der Kastenrand mit Paraffinöl bestrichen ist. Zum Schutze gegen das Heruntergleiten habe ich auf die Ränder der Glasscheiben schmale Glasleisten aufgekittet mit Wasserglas und Schlämmkreide.

Inwieweit die ganz spezifischen Tinktionen, das Hervorheben ganz besonders ausgewählter einzelner Gewebsarten durch direkte Färbung noch paraffinhaltiger Schnitte gelingen werden, kann ich endgültig noch nicht sagen. Der ganze Vorgang der Farbstoffaufnahme bei den noch paraffinhaltigen Schnitten weist darauf hin, daß man jedenfalls andere Wege einschlagen muß, um gleiche oder doch ähnliche Differenzierungen zu erhalten, wie es die Methoden von Unna, Pal, Bielschowsky usw. an den Bestandteilen der Haut und des Nervensystems in so glänzender Weise herausgearbeitet haben. Gelingt das jetzt nicht, oder überhaupt nicht an noch paraffinhaltigen Schnitten, so ist damit der praktische und hoffentlich auch der wissenschaftliche Wert meiner oben entwickelten Methoden doch

nicht hinfällig, denn ich brauche eigentlich nicht erst zu betonen, daß meine Färbungen durchaus nicht alle bisherigen, in der mikroskopischen Technik üblichen Färbemethoden ersetzen sollen oder ersetzen werden. Auch auf Prioritätsfragen gedenke ich mich nicht einzulassen. Ich weiß, daß ich Vorgänger gehabt habe, es ist mir aber unmöglich, die ungeheure Literatur nach solchen Vorgängern zu durchsuchen. Soweit jedoch meine Kenntnis auch in der neuesten Literatur reicht, hat keiner dieser meiner Vorgänger die Methoden der Färbung noch paraffinhaltiger Schnitte soweit ausgearbeitet, daß sie praktisch, einfach und brauchbar waren, und, wie meine Ausführungen, scharfe Wegmarkierungen für weiteres Fortschreiten gaben. Sollen auf diesem Gebiete weitergehende Erfolge erzielt werden, so ist unbedingt die Mitwirkung von Fachmännern der Chemie und der physikalischen Chemie notwendig. Vorläufig genügt mir die Gewißheit, daß ich den mikroskopischen Forschern einen sehr großen Teil der oft stumpfsinnigen Arbeit bei Anfertigung großer Mengen von Präparaten genommen habe, und daß trotz ihrer verblüffend einfachen Technik schon diese wenigen Methoden neue Gewebsdifferenzierungen in bisher unerreichter Feinheit und Mannigfaltigkeit bieten.

[Eingegangen am 17. Dezember 1915.]

[Aus dem Laboratorium der Berliner Universitäts-Frauenklinik.]

Biochemische Gewebsreaktionen mit Triketohydrindenhydrat.

Von

Dr. Laserstein,
Frauenarzt in Berlin.

Das Triketohydrindenhydrat wurde von RUHEMANN (1) als ein Stoff gefunden, welcher unter Ausscheidung von CO_2 und NH_3 mit Aminosäuren zu einem dem Murexid nahestehenden Aldehyd oxydiert. Mit Eiweißstoffen gekocht, gibt das Ninhydrin eine blaue Farbreaktion. ABDERHALDEN (2) benutzte diese zum Nachweis des Eiweißabbaues durch Einwirkung gewisser spezieller Extrakte auf Blutsera von Menschen, welche durch artfremde Eiweißeinwirkungen sich geändert haben, in der praktisch-ärztlichen Diagnostik. Dazu schaltete er vorher die höheren Eiweißverbindungen, die Peptone und Albumine durch Dialyse aus. Dies Verfahren hat infolge der übermäßig subtilen Handhabung und Fehlerquellen wenig Anhänger, aus theoretischen Erwägungen anderseits Gegner gefunden. Dasselbe wird nach ABDERHALDENS Vorschrift mit 0·2 ccm 1prozentiger wässeriger Ninhydrinlösung auf 10 ccm Serum durch Kochen von 1 Minute gleichmäßig ausgeführt. Die quantitative Angabe ist von Wichtigkeit, weil die Reaktion unterhalb gewisser Konzentrationsgrenzen ausbleibt. Diese Beobachtung führte HERZFELD (3) dazu, für eine gewisse Zahl von Stoffen das Optimum der Reaktion zu bestimmen. Er dampfte „viel“ Substanz mit derselben Menge Ninhydrin, wie ABDERHALDEN zur Trockne ein und extrahierte den Rückstand mit Alkohol. Er fand in vielen Fällen Ausbleiben der Blaufärbung. Dagegen konnte er bei Glyzerin schwache Blaufärbung, Milchzucker schwach Rot, Ammoniak Rot, Ammoniumkarbonat braunrote Färbung, Rodanammonium rot, Ammoniumoxalat starke Violettfärbung beobachten. Die Rotfärbung hängt von Säureanwesenheit ab, denn sie konnte stets mit ganz geringen Mengen von NH_3 beseitigt und in Blau verwandelt werden. Für Glykokoll und Alanin trat die Reaktion in einer Ver-

dünnung von 1:40000000 auf, was für die außerordentliche Feinheit des Reagens spricht.

W. Halle, Löwenstein und Pribram erweiterten den Kreis der Stoffe, welche, mit Ninhydrinlösung gekocht, blaue Farbreaktion geben auf die Alkohol-Aldehyd- und Ketongruppen. Dabei fanden sie eine Verstärkung derselben durch Zusatz von OH-Jonen, besonders der Kationen. Neuberg (5) wies dieselbe für Thuoin, Ammoniaksalze, organische Säuren, Dikarbonylverbindungen und Halogenderivate nach. Herzberg (3) konnte durch Schwellen-Wertbestimmungen gesetzmäßig feststellen, daß die niederen Abbaustoffe des Eiweißes, die Amine, am stärksten reagieren, weniger stark die Peptone und am geringsten die höchsten Eiweiße, die Albumosen, Globulin, Kasein, Vitellin usw. Diese quantitative Bestimmung hat unsere Kenntnisse von dem noch sehr ungeklärten Eiweißaufbau bereichert und von ihnen geht die Übertragung der Reaktion auf tierische Gewebe aus, welche der Zweck dieser Arbeit ist.

Loew (6) hat, ohne daß ich seine Arbeit kannte, Ninhydrininjektionen bei kleinen Säugetieren gemacht und dabei hauptsächlich die enorme Giftwirkung beobachtet. Von Färbungen erwähnt er nur solche der Umgebung der Injektionsstelle. Meine Untersuchungen erstrecken sich einerseits auf frische Gewebe (Frosch, Mensch), auf die roten Blutkörperchen (Frosch, Kaninchen, Mensch), und auf Injektionen in die Lymphsäcke des Frosches (Rücken- und Bauchhaut in der Übergangsgegend zum Halse) im lebenden Zustande.

Methode.

Ich kochte Stückchen von $^1/_2$ bis 1 cm Durchmesser in etwa 3 bis 4 cc Ninhydrinlösung 0·1:50 etwa 2 bis $2^1/_2$ Minuten lang mit Unterbrechungen beim Überschäumen im Reagensglas. Die Zelldurchdringung wird von der wässerigen Lösung und dem Kochprozeß entschieden stark beeinträchtigt. Nach dem Kochen stellt sich fast plötzlich starke Blaufärbung ein. Die Stücke werden in destilliertem Wasser sofort mittels Gefrierverfahren geschnitten und in Glyzerin mikroskopisch untersucht.

Beobachtungen.

Schon bei Erwärmung kurz vor dem Kochen nimmt die Ninhydrinlösung, wenn das Gewebsstück darin liegt, eine opale Färbung an,

sie läuft blauweiß an. Sobald die Flüssigkeit ordentlich kocht, färbt sich die Oberfläche desselben blau bis tiefblau. Zusatz von $^1/_{10}$ Normalnatronlauge vermindert die Reaktion und wirkt auch schädigend für die mikroskopische Feststellung der Zellgrenzen. Säurezusatz von $^1/_{10}$ Normalsalzsäure hat eher einen geringen fördernden Nutzen für die Färbung, aber keinen erheblichen. Läßt man die Stücke nach dem Kochen einige Zeit im destillierten Wasser, so teilt sich die Farbe demselben mit. Diese Farblösung vermag besonders die trockene Epidermis der Haut, Leinewand, Wollgewebe stark zu färben in violetten Tönen. Auch Gefrierschnitte können leicht gefärbt werden. Dagegen sind Paraffinschnitte, nach Entfernung des Paraffins natürlich, auch beim Kochen refraktär. Die entfärbten Stücke können durch Kochen in frischer Ninhydrinlösung beliebig oft blau gefärbt werden. Es scheint sogar die Reaktion immer stärker zu werden. Ich habe 6- bis 10mal gekocht.

1) Froschmuskelstück. Scharfe himmelblaue Färbung der Kuhnheimschen Muskelfelder, ohne Reaktion des Zwischengewebes. Dicke Schnitte (40 μ) zeigen dunkelblaue, aber sonst gleiche Färbung (schwache Vergrößerung).

2) Tubenquerschnitt in der Nähe des Uterusansatzes von der Frau. Die Muskelzüge sind bis auf den linken unteren Quadranten scharf hellblau gefärbt, weniger das zentrale Schleimhautepithel. Die Serosa und Subserosa sind ungefärbt, obwohl sie der umspülenden Ninhydrinlösung stärker ausgesetzt waren.

3) Das Ligamentum rotundum der Frau. Ähnlich wie bei der Tube sind die Muskelzüge hellblau gefärbt. Die Randzone ist ungefärbt geblieben.

4) Froschdarm dicht am Magen. Deutlich gefärbt ist die Muscularis, weniger deutlich die Muscularis mucosae und die Becherzellen der Schleimhaut.

5) Rote Blutkörperchen. Strichpräparat unmittelbar nach dem Hervorquellen des Blutstropfens. Das Präparat wird luftgetrocknet und in reinem Alkohol gefärbt. Darauf wird über einer Bunsenflamme aufgegossene Lösung auf das Präparat leicht gekocht. Es zeigen sich einige rote Streifen im Präparat, deren Fortschaffen mit Ammoniak nicht gelang.

Kurz nach dem Kochen tritt deutliche Blaufärbung auf. Die starke Vergrößerung (Ölimmersion) zeigt scharfe Randfärbung sowohl bei den ovalen Froschblutkörperchen als beim Kaninchen und Menschen. Beim Frosche folgt dann mattere Färbung des Körperchengewebes,

die Umrandung des Kernes ist ähnlich der Peripherie scharf dunkelblau. Der Kern ist hell bis auf eine große Zahl deutlicher dunkelblauer Stränge im Inneren. Im Stroma sind häufig Vakuolen. Die Säugetierblutkörperchen sind ohne Unterschied teils mit schmalem dunkelblauen Rande und einem zentralen ungefärbten, vakuolenähnlichen Kreise, teils mit breiterer Randzone von schwächerer Reaktion.

Blutarme Frauen (Karzinom, Gravidität vor der Entbindung) haben eine entsprechend der Größe ihrer Blutarmut schwächere Blaureaktion.

6) Menschliche Zotten einer ausgetragenen Placenta. Die Reaktion erstreckt sich auf den Epithelsaum und sehr stark auf die Blutgefäße, von denen einzelne kleinere dunkelblau im ganzen Lumen gefärbt sind, andere größere im Verlaufe der Muscularisschicht mit freiem Lumen.

7) Injektionen in die Lymphsäcke des Frosches wurden von der Mundhöhle aus ausgeführt. Hier zeigte sich nach einigen Minuten eine Rotfärbung der Bauch- und Brusthaut. Nach $^1/_4$ Stunde wurde der Frosch reaktionslos. Die Zirkulation des Blutes in der Schwimmhaut hörte auf. Die Ausläufer der Pigmentzellen, darauf diese selbst färbten sich deutlich dunkelblau, die Muskulatur besonders des Bauches und der Brust wurde dunkelviolett. Das Herz schlug noch einige Zeit, allerdings unregelmäßig nach der Herausnahme des sonst reaktionslosen Tieres. Die Injektion in die Haut oberhalb der Wirbelsäule zeigte dieselben Erscheinungen ohne die Rotfärbung der Bauchhaut.

Endlich gaben auch Injektionen mit schon gewonnener Farbstofflösung (durch Kochen mit Gewebe) diese Reaktionen wie mit der einfachen klaren Lösung 0·1 : 50·0. Nach der Färbung injizierte ganz verdünnte Ammoniaklösung 1 : 50 vermochte die Rosafärbung nicht zu ändern.

Betrachtungen.

1) Man kann als These aufstellen, daß die Ninhydrinlösung beim Kochen mit Geweben eine Blaufärbung der roten Blutkörperchen und Muskeln hervorruft. Der Farbstoff löst sich im Wasser mit klarer blauer Farbe und ist fähig zu Färbungen anderer Gewebe.

Die Färbung ähnelt am meisten der Eosinfärbung; ist aber nicht ganz so differenzierend wirksam, was vielleicht der Kochmethode zur Fixierung zuzuschreiben ist.

2) Hypothetisch kann man die Ninhydrinfärbung der Gewebe von Muskeln und roten Blutkörperchen als Aminsäurereaktion bezeichnen. Das würde mit den Herzfeldschen Beobachtungen übereinstimmen, welche die Amine als weit empfindlicher wie die höheren Eiweiße feststellen. Da die Epithelien eine ganz schwache Reaktion ergaben, so könnte man ihnen gemäß Herzfeld einen Peptonaufbau zuschreiben, den Bindegeweben endlich, welche gar keine Reaktion zeigten, würde man ebenso wie dem Nervengewebe eine Albumosenzusammensetzung zuweisen. Der Einwurf, daß eine Anhäufung von Eiweißen eine Reaktion geben könnte, welche einer geringen Aminanhäufung entspricht, würde für Amine wenigstens durch das Injektionsexperiment am Frosche eine Widerlegung erfahren. Denn nach Halle, Löwenstein und Pribram geben Amine auf kaltem Wege dieselbe nur bei Sauerstoffausschluß. Die Reaktion trat beim Frosche, einem Kaltblüter, der an sich schon sehr geringen Sauerstoff hat, ein, nachdem er in seinem Blutkreislauf stark geschädigt war, so daß der Sauerstoff noch weiter vermindert wurde. Endlich trat er in den Pigmentzellen und seinen Ausläufern, später in den Muskelgeweben auf, so daß man eine vollkommene Sauerstoffausschließung besonders in den Pigmentzellen, welche vom Blutkreislauf am wenigsten umspült sind, sicher annehmen kann. Dem würde auch das refraktive Verhalten der roten Blutkörper nicht entgegenstehen, da sie denselben am meisten behalten.

Daß die Erythrozyten blutarmer Personen eine geringere Reaktion geben als normale, könnte freilich auf vermehrtem Albumosengehalt ebensogut wie auf verringerter Aminanhäufung beruhen. Ein sicherer Beweis für beides ist nicht geführt worden.

Sollte sich meine Annahme bewahrheiten, daß Amine die Ursache der Reaktionen bilden, nicht Anhäufungen von Peptonen oder Albumosen, so würden wir einen Einblick in die chemischen Vorgänge pathologischer Eiweißveränderungen z. B. Eklampsie, Karzinom usw. gewinnen können. Beobachtungen in dieser Richtung standen mir noch nicht zur Verfügung.

Daß entfärbte Stücke durch Kochen in neuer Ninhydrinlösung immer wieder die Färbung ergeben, diese sogar stärker zu werden scheint, würde die Unsicherheit der Abderhaldenschen Versuche besonders blutgefäßreicher Stücke wie der Placenta erklären. Daß übrigens die Reaktionserkennung geübt werden muß, davon konnte ich mich überzeugen, da auch die nicht gefärbten Gewebe bei heller Tagesbeleuchtung zu Tönen der blauen Farbe neigen.

Literatur.

1) Ruhemann, Journ. of chem. Soc. Transact. vol. **97**, 1910, p. 1438; vol. **99**, 1911, p. 972; vol. **101**, 1912, p. 780 (nach Herzfeld).
2) Abderhalden, Abwehrfermente usw. Berlin (Springer) 1914.
   Abderhalden u. Schmidt, Einige Beobachtungen mit Triketohydrindenhydrat (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Straßburg 1913, Bd. 85, p. 143).
3) Herzfeld, Biochemische Zeitschrift. Berlin (Springer) 1914. Versuche mit Triketohydrindenhydrat. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der NH_2COOH-Gruppe. Bd. 59, p. 249.
4) Halle, W., Löwenstein u. Pribram, Biochemische Zeitschrift. Berlin (Springer) 1914. Bemerkungen über Farbenreaktionen des Triketohydrindenhydrates. Bd. 25, p. 348.
5) Neuberg, Biochemische Zeitschrift. Berlin (Springer) 1914. Beobachtungen über Triketohydrindenreaktion. Bd. 56, p. 500.
6) Loew, Biochemische Zeitschrift. Berlin (Springer) 1915. Über Giftwirkung des Ninhydrins. Bd. 69, p. 111.

[Eingegangen am 1. November 1915.]

Über ein neues, billigeres Gemisch für Wachsrekonstruktionen.

Von

C. U. Ariëns Kappers
in Amsterdam.

In dem Institut für Hirnforschung in Amsterdam sind in den letzten Jahren sehr viele Wachsrekonstruktionen von ganzen Gehirnen oder Hirnteilen angefertigt und machte der — auch schon vor dem Ausbruche des Krieges — sehr hohe Preis des natürlichen Bienenwachses dies zu einem sehr kostspieligen Unternehmen.

In Holland ist der Preis des Wachses unter normalen Umständen etwa 4·25 M. pro Kilo. Werden also in einem Jahre zehn Wachsrekonstruktionen angefertigt — jede etwa von 5 Kilo —, so wird das jährliche Budget dadurch mit $5 \times 10 \times 4·25$ M. oder 212·50 M. belastet. Weil wir nun stets mehr zu der Einsicht kamen, daß unsere Kenntnis vom Zentralnervensystem durch dieses Verfahren sehr vermehrt wird, und wir dadurch stets größere Quantitäten Wachs brauchten, kam eine unserer Präparatorinnen, Fräulein d'Ancona, auf den Gedanken, zu versuchen, das Wachs ganz oder teilweise durch Zerasin (oder Zeresin) zu ersetzen, welches auch sonst ein sehr viel gebrauchtes Surrogat dafür ist (z. B. ist es in dem sogenannten Linoleumwachs meistens vorhanden). —

In dieser Richtung gemachte Versuche haben nun tatsächlich gezeigt, daß ein teilweiser Ersatz sehr brauchbar ist. —

Da unsere Erfahrungen sich jetzt über etwa anderthalb Jahre erstrecken und die aus diesem Material angefertigten Modelle sich nicht weniger gut gehalten haben — ja sogar (s. u.) vielleicht etwas besser — als diejenigen Modelle, welche kein Zerasin enthalten, erachte ich mich wohl berechtigt, jetzt darüber Näheres mitzuteilen.

Ich möchte in erster Linie bemerken, daß man ursprünglich unter „Zeresin" oder „Zerasin" einen raffinierten Ozokerit, sogenanntes grünes Erdwachs verstand, welcher u. m. in Galizien gefunden wurde.

Da der echte Ozokerit aber stets seltener wurde — resp. da der Preis desselben fortwährend stieg (es kostet jetzt, unter normalen Umständen, etwa 2·50 M. pro Kilo) — hat man angefangen, den raffinierten Ozokerit oder das wirkliche Zeresin stets mehr mit anderen ähnlichen Stoffen zu vermischen, und jetzt ist dasjenige, was unter diesem Namen in dem Handel vorkommt, wohl etwas ganz anderes geworden und meistens verschieden je nach der Fabrik, welche es herstellt.

Das Zeresin, welches wir von dem „Holländischen Bienenpark" in Utrecht beziehen, hat einen Schmelzpunkt von 55° bis 58° C und kostet nur 0·75 M. pro Kilo. Seine Farbe ist wachsartig, es läßt sich leicht in Platten gießen, seine Konsistenz ist jedoch etwas spröder als die von Wachs.

Der letzte Umstand ist Ursache, daß es allein (ohne Mischung) nicht oder viel weniger gut benutzt werden kann, weil die aus dünnen Platten geschnittenen feinen Teile leichter brechen und der Schmelzpunkt vielleicht auch nicht hoch genug ist.

Wir sind deshalb sofort dazu übergegangen, das Zeresin mit reinem Wachs zu vermischen, um der Mischung größere Geschmeidigkeit zu geben. —

Von diesen Mischungen hat uns schon diejenige vorzüglich gefallen, welche nur ein Drittel Wachs und zwei Drittel Zerasin des oben genannten holländischen Bienenparks enthält.

Diese Mischung kostet unter normalen Umständen nur etwa 2 M. das Kilo und ergibt also dem Gebrauch von reinem Wachs gegenüber eine Ersparnis von 2·25 M., d. i. mehr als die Hälfte.

Da der Schmelzpunkt des reinen Wachses 64° C ist und derjenige des von uns gebrauchten Zeresins etwa 56° C sein dürfte, ist der Schmelzpunkt der Mischung etwa 60° C.

Hierin unterscheidet es sich also sehr wenig von dem Schmelzpunkte des Wachses, wie es in den meisten Laboratorien zur Rekonstruktion gebraucht wird, weil dem reinen Wachs doch meistens eine Spur Terpentin hinzugefügt wird und dadurch der Schmelzpunkt der benützten Masse auch nicht viel höher als 61° C oder 62° C sein wird. Übrigens macht 1 oder 2 Grad Differenz in dieser Hinsicht auch nicht viel aus und geschieht die Beimischung mit Wachs hauptsächlich der Geschmeidigkeit wegen.

Oben sagte ich, daß die Modelle, welche mit unserer Zeresin-Wachsmischung angefertigt sind uns bis jetzt nicht nur eben so gut, sogar besser gefallen haben, als die üblichen Wachsrekonstruktionen, wie wir sie früher anfertigten.

Es scheint nämlich, daß die allmähliche Verdunstung des Terpentins, welchen man — obschon in sehr geringen Quantitäten — zusetzt, zu einer geringen Schrumpfung der Modelle Anlaß gibt, oder wenigstens geben kann — auch wenn dieselben gut gefirnißt sind. Ich habe wenigstens wohl einmal bemerkt, daß die Modelle nach 1 oder 2 Jahren weniger gut in den Gipsabguß passen, worin sie bewahrt werden, und welcher kurz nach ihrer Herstellung als ein negativer Abguß gemacht wird, um als Fuß zu dienen.

Da eine Volumänderung des Gipses, nachdem der Gipsbrei festgeworden, seiner kristallinischen Struktur wegen durch Verdunstung von Wasser wohl nicht zuläßlich ist, kann dies wohl nur durch eine geringe Volumverringerung der Wachsmodelle[1] kommen.

Wie dies auch sein möge, ich habe bis jetzt an den Zeresin-Wachsmodellen unserer Sammlung (und wir haben jetzt mehr als 20 derselben angefertigt) nie so etwas bemerkt.

Ich fühle mich denn auch jetzt völlig berechtigt, die Mischung ihrer viel größeren Billigkeit wegen sehr zu empfehlen.

---

[1]) Ich will übrigens bemerken, daß wir diese Erscheinung nicht bei allen Wachsmodellen konstatieren konnten.

Amsterdam, den 20. Oktober 1915.

[Eingegangen am 5. November 1915.]

[Aus dem histologischen Laboratorium der medizinischen Fakultät zu Bukarest. Direktor: Prof. Dr. J. BRUCKNER.]

Ein neues Verfahren zur Darstellung der Knochenhöhlen und der Knochenkanälchen.

Von

Dr. I. Enescu,

Assistent am histologischen Laboratorium der medizinischen Fakultät zu Bukarest.

Der Knochen wird fixiert und völlig entkalkt in Zelloïdin eingebettet. Möglichst dünne Schnitte.

1) Färbung der Schnitte 2 Stunden in der Farblösung, die man sich stets frisch so herstellt, daß man zwei Tropfen GIEMSA-Lösung (GRÜBLER) auf 1 cc destilliertes Wasser gibt. Die Färbung gelingt am besten im Brutofen bei 37° C.
2) Differenzieren in Leitungswasser.
3) Trocknen mit Fließpapier.
4) Übertragen in Azeton purissim, in dem keine Farbstoffwolken abgehen dürfen.
5) Aufhellen in reinem, säurefreien Xylol; Einschließen in neutralen Kanadabalsam.

Die Präparate sind sehr elegant und vorzüglicher als diejenigen, die nach den bestehenden Verfahren hergestellt werden. Auf Knochenschnitten stellt die GIEMSA-Lösung elektiv die Knochenhöhlen und Knochenkanälchen dar. Diese letzten erscheinen außerordentlich zahlreich und sehr deutlich sichtbar. Der Einmündungsort eines Kanälchens in einem andern unterscheidet sich sehr klar in der Form eines dunkleren gefärbten Punktes. Die HAVERSschen Systeme sind mittels zahlreicher Kanälchen in Verbindung untereinander. Dieses Verfahren gelingt immer; die Präparate sind dauerhaft.

Bukarest, den 27. November 1915.

[Eingegangen am 5. Dezember 1915.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Kiyono, K., Die vitale Karminspeicherung. Ein Beitrag zur Lehre von der vitalen Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Zelldifferenzierungen im entzündeten Gewebe. Jena (G. Fischer) 1914. 258 pp. u. 5 Tfln.

Zur Herstellung der für die Injektion dienenden Farbstofflösung wurde eine kalt gesättigte wässerige Lösung von kohlensaurem Lithium mit einem Zusatz von 5 Gewichtsprozent besten Karmins von Grübler 10 bis 15 Minuten im Wasserbad gekocht. Diese Flüssigkeit ist, um Niederschläge zu verhüten, direkt vor dem Gebrauch zu filtrieren. Die Injektion erfolgte bei Kaninchen in die Ohrvenen, bei Hühnern in die Flügel- oder anderen Venen, die im subkutanen Gewebe der Bauch- oder Brustwand verlaufen. Bei einer intraperitonealen Injektion wird der Farbstoff zwar ziemlich rasch resorbiert, so daß man nach 24 Stunden keine Farbstofflösung mehr am Ort der Injektion vorfindet, es treten aber Reizerscheinungen am serösen Gewebe auf, so daß diese Methode für die Untersuchung des Peritonealgewebes nicht in Frage kommen kann. Ferner hat sie vor der intravenösen noch den Nachteil, daß bei einer etwaigen akuten Vergiftung das Tier vor der vollständigen Resorption des einverleibten Farbstoffes ziemlich rasch zugrunde geht und der in der Bauchhöhle zurückgebliebene Farbstoff die inneren Bauchorgane imbibiert. Was die subkutane Injektion betrifft, so erzeugt dieselbe an der betreffenden Stelle eine seröse Entzündung. Da die Resorption der Farbstofflösung dabei äußerst langsam vor sich geht, ist die Methode für die Untersuchung des ganzen Körpers nicht empfehlenswert.

Nach intravenöser Injektion rötet sich schon nach einigen Minuten die sichtbare Schleimhaut des ganzen Tierkörpers und auch der Urin

nimmt mehr oder weniger Färbung an. Die Dosis jeder Injektion hat je nach der Größe des Tieres zwischen 5 bis 8 cc zu betragen. Der größte Teil des injizierten Karmins wird von den Nieren wieder ausgeschieden und nur ein geringer Teil verbleibt im Organismus. Um schöne intravital gefärbte Präparate zu erhalten muß die Injektion an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt werden. Nach der Injektion ist das Tier oft etwas matt, erholt sich jedoch gewöhnlich rasch wieder. Die Injektion größerer Dosen dieser körperfremden Farbstofflösungen ruft selbstverständlich im tierischen Organismus derartige Veränderungen hervor, daß das Tier in 1 bis 2 Stunden nach der Injektion unter Krampferscheinungen zugrunde gehen kann. Auf Grund vieler Erfahrungen empfiehlt Verf. bei der Injektion in folgender Art vorzugehen: am ersten Tage gibt man 4 bis 6 cc Lösung, am zweiten 6 bis 8 cc und wiederholt dies 6 bis 8 Tage lang. Will man das Versuchstier sicherer vor einer stärkeren oder gar tödlichen Intoxikation bewahren, so kann man vorsichtshalber die tägliche Dosis von 6 bis 8 cc wieder in 2 oder 3 kleinere Dosen zerlegen und diese in bestimmten Zeiträumen dem Tiere einspritzen.

Für die Untersuchung wurde dem eben getöteten Tiere immer zunächst ein kleines Stück des betreffenden Organes herausgeschnitten, um für frische Präparate Verwendung zu finden. Die übrigen Organstücke wurden alsdann fixiert. Hierzu diente 85- bis 95prozentiger Alkohol, 5- bis 10prozentiges gewöhnliches Formol und konzentrierte Sublimatlösung. Der Alkohol ist zur Fixierung größerer Organstücke nicht geeignet, da er nicht tief genug eindringt. Auch zur Untersuchung der Fette ist er nicht gut zu verwerten. Formol- und Sublimatfixierung geben in jeder Beziehung befriedigende Resultate, nur darf man bei letzterer die Behandlung der Schnitte mit Jod-Jodkalilösung nicht allzu lange ausdehnen, weil dadurch eine Entfärbung der Karmingranulierung eintritt. Osmiumsäure und Chromsäure enthaltende Fixierungsflüssigkeiten sind auf jeden Fall zu vermeiden, da sie die Karmingranula vernichten.

Die fixierten Organstücke wurden in Alkohol entwässert und meist in Paraffin eingebettet. Feinste Karmingranula oder schwache Rotfärbung der Gewebszellen lassen sich am besten ohne Kernfärbung untersuchen. Soll eine solche angewandt werden, so ist vor allem Mayers Hämalaun zu empfehlen, weil dadurch gerade die Konturen der violett gefärbten Kerne äußerst scharf hervortreten, während das Protoplasma fast gar nicht gefärbt wird. Zu hämatologischen Untersuchungen kamen noch Färbungen mit Methylenblau, polychromem Methylenblau, Giemsas Lösung und Unna-Pappenheims Methylgrünpyroninlösung zur Verwendung. Bei Benutzung der Altmannschen Granulafärbung geht das aufgespeicherte Karmin aus den Gewebszellen heraus, ebenso beeinflußt die Eisenhämatoxylinfärbung die Karmineinlagerungen oft ungünstig. Zu erwähnen ist noch, daß im Tierexperiment die Krankheiten künstlich bei gesunden Tieren erzeugt

wurden, so daß sie nicht mit den spontan entstandenen Krankheiten, worüber aber auch gelegentlich Versuchsergebnisse gesammelt wurden, identifiziert werden können.

Anschließend an die Untersuchungen über die einfache Karminspeicherung stellte Verf. noch Versuche mit intravenöser Einverleibung von Tuscheaufschwemmungen und über vitale Doppelspeicherung an. Zu ersterer diente eine Aufschwemmung chinesischer Tusche, deren Rußpartikelchen durch Beimischung von Gelatine zu fester Konsistenz gehärtet waren. Die Aufschwemmung geschah in physiologischer Kochsalzlösung, woraus die groben Partikelchen durch Kolieren mit Fließpapier entfernt wurden. Jedem Kaninchen wurden von dieser Aufschwemmung je 4 cc pro Kilo Körpergewicht in die Ohrvenen injiziert. Dies ertrugen sie gewöhnlich gut, wenn ausgedehnte Thrombosen in inneren Organen nicht stattfanden. Um die Beziehung zur vitalen Karminfärbung zu studieren, wurde bei einigen Versuchen während 7 Tagen vor der Tuscheinjektion noch Lithionkarminlösung injiziert.

Zum Studium vitaler Doppelspeicherung wurden den Versuchstieren teils wiederholt ein Gemisch aus gleichen Teilen 5prozentiger Lithionkarminlösung und 1- bis 1·5prozentiger Trypanblaulösung injiziert, teils ein Gemisch aus gleichen Teilen 5prozentiger Lithionkarminlösung und gesättigter Indigokarminlösung. Da das Indigokarmin in Wasser äußerst leicht löslich ist, darf man die Präparate nicht mit Wasser in Berührung bringen. Dünne — ungefähr 2 bis 4 mm dicke — Organstücke der Niere und Leber wurden sofort nach der Tötung des Tieres exzidiert und bei stündlicher Erneuerung der Flüssigkeit in absolutem Alkohol oder Azeton fixiert. Nach 2 bis 20 Stunden wurden die Stücke in Zelloïdin eingebettet. Die Schnitte wurden noch mit alkoholischer Eosin-, Gentianaviolett- oder Bismarckbraunlösung zur Erzielung einer Kontrastfärbung nachtingiert.

Vergleicht man die bei der Vitalfärbung mit Lithionkarmin gewonnenen Resultate mit den Angaben anderer Autoren, die mit Trypanblau, Pyrrholblau und Isaminblau arbeiteten, so zeigt sich, daß mit Hilfe dieser neueren Färbungen nicht mehr gewonnen wird als mit der alten Lithionkarminfärbung. Ein großer Vorzug der letzteren besteht aber in ihrer vollkommenen Fixierbarkeit. Pyrrholblaufärbungen sind nicht nur an und für sich schwerer fixierbar, sondern auch viel leichter zerstörbar. Eine 5prozentige Lithionkarminlösung scheint allerdings bei der intravenösen Injektion für die Tiere etwas giftiger zu sein als die gleiche Menge einer 1- bis 1·5prozentigen Trypanblaulösung. Bei der subkutanen Einverleibung ruft die Karminlösung stärkere Entzündung als die Trypanblaulösung hervor. Es ist daher für wiederholte intravenöse Injektion bei Kaninchen Karmin mehr zu empfehlen, dagegen erscheint für subkutane Applikation das Trypanblau, besonders für kleinere Tiere (Ratte, Maus), geeigneter.

E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).

2. Mikrophotographie und Projektion.

Stange, Praktische Winke für Mikrophotographie (München. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 34, p. 1170 m. 1 Abb.).

Wie Verf. mitteilt, kann man mit einem gewöhnlichen Mikroskope und jeder im Handel befindlichen photographischen Kamera Mikrophotogramme erhalten, die billig herzustellen sind und zur Wiedergabe wissenschaftlicher Beobachtungen ausreichen. Ist die Optik der Kamera gut, dann gestatten diese Photogramme auch eine sehr erhebliche Vergrößerung, die zu Demonstrations- und Lehrzwecken vollauf ausreicht. Das Mikroskop wird, nachdem das Objekt eingestellt ist, umgelegt und eine gewöhnliche photographische Kamera mittels improvisierter Unterlage (Bücher) derart gehoben, daß eine möglichst genaue Zentrierung des Objektives und des Mikroskopes statthat. Kleinere Grade der Abweichung wurden außerdem durch senkrechtes oder seitliches Verschieben des Kameraobjektivteiles ausgeglichen. Es wurde meist direkte künstliche Beleuchtung angewandt: elektrisches Glühlicht oder gespiegeltes Gaslicht. Auch Tageslicht resp. Sonnenlicht wurde vielfach benutzt. Wichtig ist, daß zur gleichmäßigen Beleuchtung des Gesichtsfeldes zwischen Lichtquelle und Objekt eine Mattscheibe zwischengeschaltet wird. Auf der Mattscheibe der Kamera erscheint dann das zu photographierende Objekt. Die scharfe Einstellung des Bildes erfolgt lediglich durch Schrauben an der Mikrometerschraube des Mikroskopes. Zunächst wird die Kamera auf unendlich eingestellt und dem Okulare des Mikroskopes ganz hart genähert. Genügt die Größe des Bildes auf der Mattscheibe noch nicht, so kann durch Einstellen der Kamera auf nähere und nächste Entfernung (1 m und noch näher der Einstellskala) eine weitere Vergrößerung des Bildes erwirkt werden, auch wenn schon durch das gewählte Okular die sonst größte mögliche Vergrößerung des Bildes herbeigeführt war. Die Einstellung auf größte Schärfe des Bildes auf der Kameramattscheibe erfolgt dann wiederum nur durch Hin- und Herdrehen der Mikrometerschraube des Mikroskopes. Um gute Aufnahmen zu erhalten, ist es nötig, zwischen Objektiv der Kamera und Okular des Mikroskopes abzudichten: einfach dadurch, daß man ein geschmeidiges, dunkles Tuch um den Okularteil und das Objektiv herumwindet. Wichtig ist weiter die Wahl der Platte und die Belichtungszeit. Eine gewöhnliche Platte genügt für Aufnahme nur rot gefärbter Objekte. Eine orthochromatische Platte ist dagegen erforderlich, wenn es sich um blaugefärbte oder in mehreren Farbtönen gehaltene Objekte handelt. Auch ist bei manchen orthochromatischen Platten noch die Anwendung einer Gelbscheibe erforderlich. In jedem Falle ist es ratsam, eine lichthoffreie Platte zu verwenden, da man gegen

das einfallende Licht photographiert. Die Belichtungszeit, die sich nach der Art der Lichtquelle und der Beschaffenheit des Objektes und seiner Vergrößerung richtet, beurteilt man am besten nach der Helligkeit des Bildes auf der Mattscheibe. Die Belichtung erfolgt mittels des an den meisten neueren photographischen Apparaten angebrachten Drahtauslösers oder durch Ein- und Ausschalten des elektrischen Lichtes bei geöffneter Kassette in verdunkeltem Zimmer. Beide Belichtungsmethoden sind praktisch. Die Erschütterung der Kamera beim Ein- und Ausschalten mittels des Drahtauslösers kommt gar nicht in Betracht und fällt bei einer gut gewählten Unterlage fort. Die Belichtung mittels Ein- und Ausschaltens der elektrischen Lichtquelle hat den Vorzug, daß nicht die geringste Erschütterung des Apparates eintreten kann. Benutzt man anfangs nur die gleiche künstliche Lichtquelle, dann ist die Einarbeitung sehr leicht und man erhält sehr bald Mikrophotogramme, die den Anforderungen durchaus genügen. Ist nur eine mäßige Vergrößerung des Objektes nötig — z. B. in der Bakteriologie Übersichtsaufnahmen von Bakterienkolonien, größere Organschnitte (Gehirn- und Embryoschnitte usw.) eignen sich nicht für mikrophotographische Aufnahmen —, dann kommt eine Lupenvergrößerung in Frage. Mittels eines leicht selbst anzufertigenden Aufsatzes auf das Kameraobjektiv wird eine Lupe (z. B. die Hinterlinse des Mikroskopokulares) eingefaßt und vor das Objektiv der Kamera gesetzt. Man erhält dann auf der Mattscheibe der Kamera ein mehrfach vergrößertes Bild des Objektes. Befestigt man nur mittels Heftpflasterstreifen die vergrößernde Linse vor dem Kameraobjektiv, dann erhält man auch ein leidliches Bild, doch erleidet die Zentrierung durch das Nachlassen der Heftpflasterklebmasse leicht Fehler. *Schiefferdecker (Bonn).*

3. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Unna, P. G., Die Sauerstofforte und Reduktionsorte. Eine histochemische Studie (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **87**, 1915, Abt. 1, p. 96—150; Dermatol. Wochenschr. Bd. **61**, 1915).

In einem eingehenden Autoreferate gelegentlich einer Arbeit hat Unna seine Technik für die wichtige Darstellung seiner Sauerstoff- und Reduktionsorte ausführlich dargelegt. Die Sauerstofforte müssen im Gegensatze zu den Reduktionsorten des tierischen Gewebes unfixiert an Gefrierschnitten bearbeitet werden, da sie sich nach Fixierung in Alkohol oder Formol an Zelloïdin- oder Paraffinschnitten nicht mehr nachweisen lassen. Die Auffindung der Sauerstofforte gelingt durch Rongalitweiß (RW), eine Leukomethylenblau enthaltende,

angesäuerte Lösung des stark reduzierenden Rongalits (bei Grübler in Leipzig käuflich). Die Gefrierschnitte nehmen das Leukomethylenblau als solches auf und verwandeln es nach Abspülung des Überschusses von Rongalitweiß nur dort in Methylenblau, wo Sauerstoff lose gespeichert ist oder solche Stoffe vorhanden sind, die den von außen kommenden Sauerstoff aktivieren. Diese Leukomethylenblau speichernden „Sauerstofforte“ sind viel weniger zahlreich als die „Säureorte“ des Gewebes, welche Methylenblau speichern, aber sie fallen im allgemeinen mit den Säureorten zusammen, da sowohl Leukomethylenblau wie Methylenblau basische Farben sind. Die sauren Sauerstofforte (z. B. Granoplasma, Nissl-Körper, Kernkörperchen) zeichnen sich nur dadurch vor den übrigen Säureorten aus, daß sie sich schon mit Leukomethylenblau statt Methylenblau begnügen, was die sauren Reduktionsorte (z. B. Henlesche Scheide) nicht tun. Der Sauerstoff ist ein rasch diffundierendes Gas, das von allem Gewebseiweiß physikalisch leicht aufgenommen, aber in verschiedenster Weise und mit sehr verschiedener Festigkeit chemisch gebunden wird. Wo das Gewebseiweiß stark reduziert, dient der Sauerstoff zu seiner Verbrennung, er wird in das Molekül aufgenommen und verliert seine Wirksamkeit nach außen. Hier hat man reine Reduktionsorte vor sich (Keratin, Myosin, Neurin). Wo das Gewebseiweiß schwächer reduziert, wird der hinzudiffundierende molekulare Sauerstoff in Peroxydform (—O—O—), also nur lose gebunden (Spongioplasma, oxyphile Substanzen). Wo nun der Ort einer solchen Bildung zusammentrifft mit der Durchsetzung des reduzierenden (basischen) Eiweißes mit sauren Eiweißen (z. B. Zytose, Globulin) — und dies ist gerade an den sogenannten sekundären Sauerstofforten der Fall — da kann sich der so gebundene Peroxydsauerstoff unzersetzt speichern und wir erhalten umschriebene, labile Sauerstoffreservoire im reduzierenden Gewebe (Granoplasma, Kernkörperchen, saure Kerne, Knorpelgrundsubstanz). Wo endlich außerdem noch Sauerstoffkatalysatoren in dem sauren Eiweiß eingeschlossen und fortgesetzt tätig sind (z. B. Eisen in Nukleïn), da speichert sich der durch Katalyse aus hinzudiffundierendem beständig und automatisch aktivierte Peroxydsauerstoff und es entstehen stabile Sauerstofforte (primäre Sauerstofforte). Die Speicherung des Methylenblaus (und anderer basischer Farbstoffe) geht nun an allen drei Kategorien von Geweben vor sich, soweit sie sauer sind, und zwar mit aufsteigender Intensität, am schwächsten in der Hornschicht, am stärksten in den Kernen. Die Speicherung des Leukomethylenblaus in den Geweben, soweit sie sauer sind, geht aber nicht an allen drei Arten von Geweben, nämlich gar nicht an den Reduktionsorten vor sich, sondern nur an den zwei Kategorien der labilen und stabilen Sauerstofforte. Es ist das nur eine notwendige Konsequenz des Gesetzes der „oxypolaren Affinität“, das ganz allgemein zwischen Eiweißen, Farben

und Beizen Geltung hat: Der sauerstoffarme Leukofarbstoff hat keine Affinität zum sauerstoffarmen (reduzierenden) Eiweiß, dagegen starke Affinität zum sauerstoffreichen (oxydierenden) Eiweiß. Das ist der Grund, weshalb der Leukofarbstoff vom tierischen Gewebe anders, und zwar in beschränkterem Umfange gespeichert wird als der entsprechende (oxydierte) Farbstoff. Der Unterschied zwischen Methylenblaufärbung und Leukomethylenblaufärbung der Gewebe offenbart sich am schlagendsten durch die vergleichende Färbung der Henleschen Scheide sowie der Kerne des Knorpels, der Ganglien und Plasmazellen. Letztere werden durch RW nicht gefärbt, da ihr Nukleïn (primärer, stabiler Sauerstoffort) allen seinen Sauerstoff an die ihn dicht umgebende Zytose (Granoplasma) abgegeben hat, welche demgemäß einen sekundären, labilen Sauerstoffort darstellt. Zieht man die Zytose durch warme Borsäurelösung aus dem Plasmazellenleibe aus, so bleibt der im Nukleïn sich ansammelnde Sauerstoff in den Plasmazellenkernen erhalten und die RW-Färbung ergibt nun die gewöhnliche Kernfärbung auch in den Plasmazellen. Sehr lehrreiche Unterschiede zwischen Säureorten und Sauerstofforten zeigen auch die Vergiftungen der Gewebsschnitte mit SO_2, H_2S, Pyrogallol, Salvarsan, Formol, absolutem Alkohol, Azeton und Zyankalium. — Darstellung der Sauerstofforte durch die RW-Methode: 1) Vorbereitung. Die Gewebe können frisch in überlebendem Zustande untersucht werden, besser aber wartet man die „agonale Schwankung“ ab und untersucht 24 Stunden später die trocken auf Eis gelegten Gewebsstücke. In jedem Falle muß das Gewebsstück unter der Wasserleitung von Blut befreit werden. Muß die Untersuchung einige Tage hinausgeschoben werden, so bringt man die Stücke in eine Petri-Schale auf eine 5 mm hohe Salzschicht von gleichen Teilen Kochsalz und Kalichlorat, die man mit so wenig Wasser bedeckt, daß die Stücke feucht in konzentrierter Salzlösung liegen, und stellt die Petri-Schale auf Eis. Die frischen Gewebsstücke werden direkt mit dem Gefriermikrotome geschnitten, die auf Salz konservierten müssen vorher durch Auswaschung gut und möglichst rasch vom Salze befreit werden, da bei längerem Aufenthalte in der sich verdünnenden Salzlösung die Sauerstofforte leiden würden. Zu diesem Zwecke drückt man von oben her in den Hals eines großen Glastrichters etwas Watte so tief ein, daß darauf gegossenes Wasser ziemlich rasch hindurchtropft. Auf den Wattebausch kommen die in Salz konservierten Gewebsstücke. Man sorgt durch Nachgießen für einen beständigen Wasserstrom und hält diesen etwa 30 Minuten im Gange. 2) Schneiden. Die Dicke der Gefrierschnitte soll nicht unter 25 μ gehen, da sie durchsichtig genug sind und sonst zu leicht zerreißen (eine vorhergehende Härtung in Formol muß ja eben vermieden werden). 3) Färbung. Man halte sich 100 g einer 0·5-prozentigen Lösung von Methylenblau vorrätig, die man mit etwa 7 Tropfen einer 25prozentigen Salzsäurelösung angesäuert hat. Von

dieser werden 10 cc in einem Reagierglase mit 0·3 g Rongalit gelinde erwärmt, bis Entfärbung auftritt (Rongalit: Erzeugnis der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik oder das gleichwertige Produkt: Heraldit von CASELLA). Zu starkes Erhitzen muß wegen möglicher Zersetzung des Rongalits vermieden werden. Es entsteht eine nahezu wasserhelle Lösung. Sollte diese nach dem Erkalten etwas trüb werden, so ist sie vor dem Gebrauche zu filtrieren. Diese Lösung von RW hält sich mehrere Tage, muß aber vor jedesmaligem Gebrauche zur Vermeidung von Niederschlägen wieder filtriert werden. Die Färbung in dieser Lösung geschieht in einem Glasschälchen innerhalb von zwei Minuten. Man überträgt die Schnitte einzeln mit stumpfer Glasnadel unter beständiger Bewegung in eine größere Schale mit abgekochtem Wasser. Die starke Bewegung hat den Zweck, die Schnitte möglichst rasch und vollständig vom Überschusse an RW zu befreien. Oft ist hierzu die Übertragung in eine zweite Schale mit abgekochtem Wasser nötig. Ein Nebenzweck der raschen Bewegung ist es, die Schnitte vor dem Ankleben an die Glasnadel und Glaswand zu bewahren, was sonst leicht geschieht. Hat man es mit Ausstrichen von Eiter, Blut usw. zu tun, so bringt man dieselben ohne vorherige Erhitzung, aber lufttrocken in ein Standgefäß mit Rongalitweiß, für etwa 2 Minuten. Zum Auswaschen läßt man sauerstoffreies Wasser über den Objektträger laufen. Die Bläuung des aufgenommenen Methylenblaues geschieht erst nach einigen Minuten (bis zu 10). Um den Schnitt darf sich während des Auswaschens keine bläuliche Wolke bilden, die ein Zeichen ungenügender Bewegung des Schnittes und Bildung von Methylenblau im Waschwasser ist. 4) Einbettung. Ist der Schnitt deutlich gebläut, so fängt man ihn direkt mit der Mitte eines Objektträgers auf, befreit seine Umgebung durch Löschpapier von Wasser und läßt ihn an der Luft langsam antrocknen. Man kann die Antrocknung durch einen warmen Luftstrom beschleunigen, aber nicht durch Erhitzung über der Flamme. Nach vollständiger Antrocknung bedeckt man den Schnitt mit einem Deckglase, welches mit einem Tropfen neutralen Balsams (GRÜBLER, Leipzig), versehen ist. Ausstriche von Eiter, Blut usw. werden, nachdem sie lufttrocken geworden sind, in Zedernöl betrachtet. Soll das Präparat aufbewahrt werden, so wird es mit Xylol gereinigt und trocken aufbewahrt. — Darstellung der Reduktionsorte durch die Kaliumpermanganat-Methode: Die Gewebe können frisch an Gefrierschnitten untersucht werden, da die Reduktionsorte aber nicht unter der Fixierung in Alkohol oder Formol leiden und nach Zelloïdin- und Paraffineinbettung bessere Schnitte erhalten werden, ist die Darstellung der Reduktionsorte an so fixiertem Materiale zu empfehlen. Die Schnitte kommen 1 bis 2 bis höchstens 5 Minuten in eine 1prozentige Lösung von Kaliumpermanganat, werden in Wasser abgespült und durch Alkohol und Öl in Balsam gebracht. *Schiefferdecker (Bonn).*

Flesch, M., Die Entstehung der ersten Lebensvorgänge. Vortrag. Jena (G. Fischer) 1915. 27 pp. 0·60 M.

Der den Fragen mikroskopischer Technik sich widmende Abschnitt behandelt Leducs „Osmotische Gewächse", das Liesegangsche Phänomen und seine Bedeutung für die Beurteilung histologischer Präparate. *Küster (Bonn).*

Szabó, Z., Elektromos melegitödoboz parafinmetszetek kinyujtására. Elektrische Wärmeschachtel zur Ausbreitung von Paraffinschnitten (Botanikai Közlemények 1915. évi 3—4).

Die Vorrichtung des Verf. besteht in einem Holzkästchen (13 : 7 : 8 cm), dessen Wände innen mit spiegelndem Kupferblech ausgeschlagen sind, in dessen Inneres von einer Schmalwand aus eine elektrische Glühlampe eingeführt werden kann, und das von einem Deckel aus Kupferblech bedeckt ist. Auf diesen legt man die Objektträger, die nach dem Bestreichen mit Glyzerineiweiß und Benetzung mit Wasser die gerollten Paraffinschnitte aufgenommen haben. Man schaltet den Strom ein, beobachtet die Entrollung der Schnitte und nimmt die Objektträger von der Schachtel fort, sobald die Ausbreitung der Schnitte perfekt geworden ist. *Küster (Bonn).*

4. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Monti, R., Sur les relations mutuelles entre les éléments dans le système nerveux central des insectes (Arch. d'Anat. Micr. t. **15**, 1913, p. 349—433 av. 40 figg.).

Die Verf. hat die gegenseitigen Beziehungen der nervösen Elemente des Zentralnervensystems bei einer großen Anzahl von Insekten untersucht. Sie verwandte im wesentlichen die moderne Technik der Reduktion von Silbersalzen, sowohl nach Cajal wie nach Bielschowsky. Da das Nervensystem der Insekten aus bisher unbekannter Ursache bei Anwendung dieser Methoden nur schwer gute Resultate ergibt, obgleich man bei anderen Klassen von Wirbellosen mit Leichtigkeit solche erhält, hat Verf. zahlreiche Versuche anstellen müssen, um geeignete Bilder zu erhalten: es wurden die Fixierungsflüssigkeiten gewechselt, die Konzentration dieser, es wurde sogar direkte Fixierung in alkoholischen Lösungen von Silbersalzen angewendet, verschieden lange Färbungen usw. Keines von all diesen Verfahren er-

gab sichere Resultate, aber jedes, falls es gelang, interessante Bilder. So diente z. B. die Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit vor der Anwendung des Verfahrens von Bielschowsky dazu, in ausgezeichneter Weise die Verteilung der Tracheen in den nervösen Ganglien zu zeigen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Mohr, O. L., Sind die Heterochromosomen wahre Chromosomen? Untersuchungen über ihr Verhalten in der Ovogenese von Leptophyes punctatissima (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 151—176 m. 2 Figg. u. 1 Tfl.).

Die Tiere wurden — und dies hat sich für die Entscheidung der gestellten Frage als durchaus notwendig gezeigt — im Monat Juli, also zu einer Zeit, in der sie sich noch in jungen Larvenstadien befinden, gesammelt. Die Hoden ließen sich relativ leicht herauspräparieren, während die Ovarien in situ fixiert werden mußten. Zu diesem Zweck wurde das Abdomen der Länge nach geöffnet und in toto fixiert, nachdem der Verdauungstraktus mit einer Pinzette entfernt worden war.

Von Fixierungsflüssigkeiten wurde nur die Hermannsche Platinchlorid-Osmiummischung angewandt, welche sich nach ausgedehnten Versuchen für das Locustidenmaterial allen anderen Reagentien als unbedingt überlegen zeigte.

Für die Schnitte der meisten Serien wurde eine Dicke von 5 μ gewählt. Da aber die weiblichen Geschlechtszellen recht groß sind, war es aber auch notwendig, Serien mit einer Schnittdicke von 7·5 μ herzustellen.

Sämtliche Präparate wurden nach dem Heidenhainschen Eisenhämatoxylinverfahren gefärbt. Für das Studium der Heterochromosomen ist es hierbei aber unbedingt notwendig, die Differenzierung verhältnismäßig weit zu treiben. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Martin, F., Zur Entwicklungsgeschichte des polyembryonalen Chalcidiers Ageniaspis [Encyrtus] fuscicollis Dalm. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 419—479 m. 8 Figg. u. 2 Tfln.).

Der Untersuchung diente diejenige Ageniaspis fuscicollis, die in der Hyponomeuta cognatella des Pfaffenhütchens (Evonymus europaea) schmarotzt. Zur Erleichterung eventueller Materialbeschaffung und zur allgemeinen Orientierung schickt Verf. folgende biologischen Angaben voraus. Ende Juli bis Anfang August legen die Ageniaspisweibchen ihre Eier in die der Hyponomeuta, die zu Paketen von 20 bis 40 Stück vereinigt an die Rinden der Evonymuszweige angeklebt werden. Noch im Herbst schlüpfen die Räupchen aus; sie bleiben aber während des Winters unter ihren als Schutzdecke dienenden Eihüllen.

Erst im Frühjahr, wenn die Evonymuszweige ausschlagen, kriechen sie an die jungen Triebe und wachsen nun rasch heran. Etwa im Mai haben sich dann die Ageniaspiseier zu den Keimschläuchen entwickelt. Ende Juni verpuppen sich die Raupen, bzw. die Ageniaspislarven, die, inzwischen herangewachsen, das Innere der Raupen erfüllen. Einige Zeit nachdem die Schmetterlinge ausgeschlüpft sind, verlassen auch die Ageniaspis ihre Puppenhüllen, bereit, die Hyponomeutagelege zu infizieren. Im allgemeinen hält es, wo Evonymus vorkommt, nicht schwer, hinreichendes Material an Larven und auch — da die Hyponomeuten sich ohne jede Schwierigkeit ziehen lassen — an Puppen und ausgebildeten Tieren zu bekommen. Um aber die allerersten Entwicklungsstadien vom frisch gelegten Ei an in möglichst geschlossener Reihe zu erhalten, ist es doch geraten, die Ageniaspis zu züchten. Zu diesem Zweck wurden im Mai möglichst viele Mottennester eingetragen und die Raupen groß gezogen. Zur Verpuppung suchen die erwachsenen Raupen das Dunkle auf und spinnen sich ein, ausgenommen die befallenen Individuen, die ihre Larvenhaut behalten und sich mit einem nur spärlichen Gespinst umgeben; mit vielen kleinen Buckeln bedeckt hängen sie charakteristisch krumm und vertrocknet da. Die infizierten Exemplare wurden ausgelesen und in Glastuben verwahrt. Um nun sowohl dem Wirtsschmetterling als auch dem Chalcidier zusagende Lebensbedingungen zu gewähren, ist es durchaus nötig, einen eingewachsenen Evonymusstrauch zum Ansetzen der Zucht zu benutzen. An abgeschnittene Zweige legen zwar die Hyponomeuten ihre Eier ab, die Ageniaspis aber stechen nicht an. Es wurde also von einem zur Verfügung stehenden Strauch ein etwa in Brusthöhe abgehender Ast in eine Art Zelt aus Mull eingeschlossen. Ein durchaus fester Abschluß ist dabei sehr wichtig, um die Forficuliden abzuhalten, die durch Zerfressen der Gelege leicht außerordentlich lästig werden. Anfang Juli wurden die geschlüpften Hyponomeuten in den großen Freilandkasten gelassen, wo sie nach einigen Tagen ihre Gelege absetzten. Die Schmarotzer, die 5 bis 6 Tage später ausschlüpfen als die Wirtstiere, gerade zu der Zeit, wenn die Eiablage der Hyponomeuten begonnen hat, wurden dann ebenfalls in den Freilandzuchtkasten ausgesetzt, wo sie ohne weiteres die Gelege anstachen. Nach beendigter Flugzeit — Mitte August — wurde der Zuchtkasten abgebrochen und über den Ast ein großer ausgesteifter Mullsack gebunden, so daß auch während des Winters bequem Material entnommen werden konnte.

Die zu konservierenden Gelege wurden vorsichtig mit einem Messer von der Rinde abgehoben, in einem Uhrschälchen mit heißem Sublimat-Alkohol-Eisessig übergossen und unter der Lupe so angestochen, daß die Eihüllen möglichst an den Stellen durchstochen wurden, wo die linsenförmigen Eier mit ihren flachen Rändern aneinander stoßen. Formol-Alkohol-Eisessig gab hier weniger gute Resultate, wohl aber bei Fixierung der Räupchen und der folgenden

Stadien. Die jüngsten Raupen lassen sich mit einem Pinsel bequem abnehmen, nachdem man behutsam die gemeinsame Schutzdecke ein Stück abgehoben hat. Aus den großen Raupen wurden die Keimschläuche durch einfaches Zerreißen in physiologischer Kochsalzlösung freigemacht. Solche Stadien wurden übrigens auch mit Flemmingscher Flüssigkeit fixiert. Die Fixierung der Imagines erfolgt teils in warmem Sublimat-Alkohol-Eisessig, teils in warmem Formol-Alkohol-Eisessig. Ihre Chitinbekleidung ist so zart, daß es nicht nötig ist, die Tiere zu köpfen oder das Abdomen abzutrennen.

Alle Stadien der Ageniaspis mit Ausnahme der Keimschläuche wurden also innerhalb ihres Wirtsgewebes liegend geschnitten. Zum Einbetten diente die Nelkenöl-Kollodiummethode nach Hoffmann. Während die Imagines sich meist sehr leicht schneiden ließen, mußte bei den Gelegen und Raupen Mastix-Kollodium zu Hilfe genommen werden.

Zur Färbung der Schnitte diente Boraxkarmin, Hämalaun und Eisenhämatoxylin, letzteres meist kombiniert mit Orange G oder van Giesonscher Färbung. Das Flemming-Material wurde wie meist üblich mit Safranin tingiert. *E. Schoebel (Neapel).*

Lehr, R., Die Sinnesorgane der beiden Flügelpaare von Dytiscus marginalis (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 87—150 m. 45 Figg.).

Sämtliches Material wurde mit dem gut konservierenden und zugleich chitinerweichenden Gemisch von Hennings fixiert. Dasselbe besteht aus 16 Teilen konzentrierter Salpetersäure, 16 Teilen 0·5prozentiger wässeriger Chromsäurelösung, 24 Teilen gesättigter Lösung von Sublimat in 60prozentigem Alkohol, 12 Teilen gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung und 42 Teilen absolutem Alkohol. Wichtig ist, daß man die Flüssigkeit erst unmittelbar vor dem Gebrauch aus den einzelnen Komponenten zusammensetzt, denn selbst nach kurzem Stehen im warmen Zimmer scheidet sich ein Niederschlag ab. Unter Umständen bekommt man schon beim Mischen der verschiedenen Flüssigkeiten eine Trübung. Dies läßt sich aber vermeiden, wenn man zunächst zu der Chromsäure die Pikrinsäure und die Sublimatlösung gießt und dann den absoluten Alkohol hinzufügt. Erst nach möglichster Abkühlung dieses orangefarbenen Gemisches, etwa unter der Wasserleitung, gibt man schließlich die Salpetersäure hinein. Die Farbe wird sich hierbei zwar in eine grüne umwandeln, aber die Flüssigkeit bleibt vollständig klar. Bewahrt man sie an einem kühlen Orte auf, so hält sie sich einige Tage unverändert.

Behufs Fixierung wurden die in Frage kommenden Stücke den chloroformierten Tieren abgeschnitten und sofort in die bereitgehaltene Flüssigkeit eingelegt. 50 cc davon genügen für beide Flügelpaare. Nach etwa 24 Stunden wurde die Flüssigkeit durch 40prozentigen Alkohol ersetzt, der anfangs öfters gewechselt werden muß. Die Weiterbehandlung erfolgte in der bekannten Weise über 60prozen-

tigen Alkohol unter Zusatz von Jodlösung bis zum absoluten Alkohol. Je stärker der Alkohol ist, um so nachteiliger scheint er auf das Chitin einzuwirken. Länger als 3 Stunden sollte man daher die Objekte nicht im absoluten Alkohol liegen lassen. Vielleicht noch vorsichtiger als bei Alkohol hat man bei der Überführung der Objekte in Xylol zu verfahren. Ein langes Verweilen darin macht das Chitin so spröde, daß es nicht mehr zu schneiden ist. Die Objekte wurden deshalb immer schon nach höchstens einer halben Stunde in flüssiges Paraffin (Schmelzpunkt 56 bis 60°) gebracht, nachdem dem Xylol zuletzt schon einzelne Stückchen Paraffin zugefügt waren. Nach etwa 3 bis 6 Stunden, je nach der Größe der Objekte, wurden sie in reines Paraffin überführt und nach weiteren 8 bis 10 Stunden eingebettet.

Beim Schneiden wurde niemals Mastixkollodium angewandt; ist das Chitin schnittfähig geblieben, so ist eine Überpinselung unnötig, hat es dieselbe verloren, so hilft eine solche auch nichts. Übung und Ausdauer ist die Hauptsache.

Zum Färben erwies sich das Delafieldsche Hämatoxylin am geeignetsten, namentlich hat es zur Erkennung der verschiedenen Chitinarten große Vorteile. Auch die Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin lieferte unter Umständen recht brauchbare Bilder.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Wassén, A. L., Beobachtungen an Thymuskulturen in vitro (Anat. Hefte H. 157 [Bd. 52, H. 2], 1915, p. 279—318 m. 5 Tfln.).

Zu den Kulturen wurde hauptsächlich Material von Rana temporaria verwandt, da dieses leicht zu beschaffen war, und weil die Technik sehr viel leichter war, als bei der Gewebskultur warmblütiger Tiere. Die Präparate brauchen weder bei der Aufbewahrung noch bei der Beobachtung bei einer bestimmten Temperatur gehalten zu werden. Ferner kann man beim Frosche aus den Lymphsäcken ohne weitläufige Vorbereitung ein brauchbares Kulturmedium erhalten. Außerdem wurde Thymus von Kaninchen benutzt im Blutplasma desselben Tieres. In einigen Fällen wurde auch die Methode von Carrel, die Kultur zu regenerieren, dadurch, daß man die gezüchteten Gewebe in Ringerscher Lösung wusch und sie dann in ein neues Medium einschloß, mit Erfolg angewendet. Nur ausnahmsweise wurde die Thymus für die Kultur so großen Tieren entnommen, daß von demselben Individuum auch hinreichend Lymphe erhalten werden konnte. Meistens wurde also das Kulturobjekt sowie das Kulturmedium verschiedenen Individuen entnommen. Ein auffallender Unterschied im

Wachstume bei Anwendung des einen oder des anderen Verfahrens war nicht zu beobachten, soweit das Tier, dem die Lymphe entnommen wurde, nicht zu alt war. Wurde die Lymphe sehr großen Tieren entnommen, so schien sich eine Hemmung im Wachstume bemerkbar zu machen. Die Tiere, denen die Lymphe entnommen wurde, wurden entweder durch Äthernarkose oder durch Ausbohren des Gehirnes und Rückenmarkes getötet. Letzteres Verfahren hat den Vorteil, daß dem Blute oder der Lymphe auf diese Weise kein narkotisierender Stoff zugeführt wird, gleichzeitig aber wird der Rückenlymphsack, der meist der ergiebigste ist, eröffnet, und sein Inhalt vermischt sich mit Blut. Gleiche Übelstände machen sich auch an den Seitensäcken bemerkbar. Eine schädliche Einwirkung der Narkotisierung auf das Wachstum wurde nicht beobachtet. Nachdem der Frosch getötet war, bzw. während der Narkose, wurde er eine Weile in senkrechter Stellung aufgehängt. Die Lymphe sammelt sich dann in den unteren Teilen der Säcke und wurde in sterilen paraffinierten Pipetten aufgefangen. Die Säcke wurden an ihrem oberen Teile mittels eines breiten, quer durch die Haut laufenden Schnittes eröffnet. Der untere Rand der Wunde wurde mit einer sterilen Pinzette herabgezogen. In die so gebildete dreieckige Öffnung wurde die Pipette eingeführt, wobei eine Berührung der Wundränder vermieden wurde. Auf diese Weise konnte Verf. sterile Lymphe erhalten, ohne besondere Vorsichtsmaßregeln gegen Infektion von der Einschnittstelle her zu treffen. Die für die Kultur verwandte Thymus wurde im allgemeinen jungen Tieren entnommen: teils kleine ausgebildete Frösche, teils Froschlarven. Bei gut genährten Tieren ist die Thymus etwa stecknadelkopfgroß oder auch größer und verhältnismäßig dick. Bei der Entfernung der Thymus für die Kultur ist eine möglichst genaue Asepsis nötig. Verf. hat die Haut durch Brennen mit einem heißen Spatel sterilisiert und dann mit sterilen Instrumenten weiter gearbeitet. Das Tier wurde vorher durch Ausbohren des Gehirns und Rückenmarkes getötet. Bei den Froschlarven ist die Thymus beträchtlich kleiner und liegt zwischen der Knorpelkapsel des inneren Ohres und dem Kiemenapparate. Das Herauspräparieren ist bei den etwas älteren Larven am leichtesten und geschieht folgendermaßen: Mit zwei Schnitten isoliert man an dem mit Ätherwasser narkotisierten Tiere eine gleich hinter dem Auge liegende keilförmige Partie. Man fährt mit der Präparation unter dem Präpariermikroskope fort und findet in dem isolierten Stücke die leicht erkennbare Knorpelkapsel, sowie unmittelbar ventrocaudal von dieser einen kleinen, runden, weißlichen Körper, die Thymus. Die Verwendung der Organe von Froschlarven ist für das Wachstum günstig, erschwert aber die Sterilisierung des Präparates. Durch wiederholtes Spülen des Embryos in sterilem Wasser, sowie durch Waschen der exstirpierten Thymus in steriler isotonischer Flüssigkeit gelang es unter Beobachtung aseptischer Vorsichtsmaßregeln, praktisch genommen, bakterienfreie Prä-

parate zu erhalten. Es war dies übrigens nach den Präparaten verschieden. Unmittelbar nach der Herausnahme wird die Thymus in eine Schale mit steriler, isotonischer oder schwach hypertonischer Kochsalzlösung oder in RINGERsche Lösung gelegt und unter dem Präpariermikroskope in kleinere Stücke zerteilt. Isotonische Kochsalzlösung ist jedoch immerhin schon eine differente Flüssigkeit und daher muß die Isolierung schnell vor sich gehen, wenn das Gewebe am Leben erhalten werden soll. Die RINGERsche Lösung ist weit unschädlicher und von großem Werte, wenn man von demselben Organe eine größere Anzahl von Kulturen anlegen will, weil man in diesem Falle hoffen darf, auch bei den zuletzt angefertigten Präparaten ein Wachstum zu erzielen. Es hat sich jedoch eine gewisse Schwierigkeit herausgestellt, die RINGERsche Lösung steril zu erhalten. Beim Kochen oder Erhitzen im Autoklaven zersetzt sich das Natriumbikarbonat, wobei Kohlensäure frei wird, und diese fällt das Kalziumsalz. Auch die Methode, die Salzmischung trocken zu sterilisieren, ergibt eine Zersetzung des Natriumbikarbonats in Natriumkarbonat und Kohlensäure. Um die Lösung möglichst steril zu erhalten, wurde folgendes Verfahren angewandt: Der wärmefeste Komponent der Lösung wurde durch Kochen für sich sterilisiert. Nach Abkühlung wurde eine bestimmte Menge einer in sterilem Wasser zubereiteten konzentrierten Lösung von Bikarbonat oder von dem trockenen Salze hinzugefügt. In letzterem Falle wurde das Salz oft vorher einige Zeit mit Schwefeläther behandelt, der vor der Vermischung gänzlich verdunstet war. Das Ergebnis war befriedigend. Beim Zerschneiden der Thymus ist es wichtig, scharfe Instrumente anzuwenden, damit die mechanische Schädigung möglichst gering ist. Oft genug dürfte der Grund für ein ausgebliebenes Wachstum gerade in zu starkem Zerreißen oder Zerschneiden zu suchen sein. Aus demselben Grunde ist es auch nicht richtig, die Gewebsstücke so klein wie möglich zu machen. Nach der Isolierung werden die Thymusteilchen mit sterilen Instrumenten in einer feinen Pipette oder auf der Spitze einer Lanzette auf ein steriles Deckgläschen gebracht. Ein Tropfen Lymphe wird sofort darüber gegossen. Nachdem die Lymphe geronnen ist, wird das Deckgläschen umgestülpt und auf die Aushöhlung eines ausgeschliffenen sterilen Objektträgers gelegt. Ein Paraffinrahmen wird rings um das Deckgläschen gegossen. Das Präparat wird bei gewöhnlicher Zimmertemperatur und bei gewöhnlicher Zimmerbeleuchtung aufbewahrt. Die Beschaffenheit der Lymphe ist sehr wesentlich; wie oben schon erwähnt, entnimmt man sie am besten einem jungen Tiere, aber auch dann wird ein gutes Resultat nur erzielt, wenn die Lymphe ein festes Gerinsel bildet, das dem Gewebe des Explantats und den herauswachsenden Zellen eine genügende Stütze gewährt. Da der Gehalt der Lymphe an Fibrinogen sich umgekehrt zu verhalten scheint wie die Menge der Lymphe, so ist diese am besten, wenn sie nur in geringer Menge vorhanden ist. Bei großem Lymph-

reichtume wird das Gerinsel locker und nach einigen Tagen findet man eine Menge von Zellen frei im Lymphtropfen herumfließen. — Verf. hat ein paar Versuche gemacht, um durch Ausbreitung einer dünnen Farbschicht von Neutralrot oder Brilliantkresylblau auf dem Deckglase (nach Nakanishi) eine vitale Färbung des wachsenden Gewebes zu erzielen. Die Versuche mißlangen, da ein Wachstum ausblieb (wie bei Pappenheimer). Verf. konnte daher nur die fixierten Kulturen färben. Fixiert wurde nach kurzer Behandlung mit Formoldämpfen in 10prozentiger Formollösung oder durch Osmiumdämpfe. Gefärbt wurde dann mit Hämatoxylin und Scharlachrot, untersucht wurden diese Präparate meist in Glyzerin. *Schiefferdecker (Bonn).*

Walton, A. J., The effect of various tissue extracts upon the growth of adult mammalian cells in vitro (Journ. Exper. Med. vol. **20**, 1914, no. 6, p. 554—573; Zentralbl. f. Biochemie u. Biophysik Bd. **17**, 1915, No. 22, p. 880).

Es wurde die Wirkung der Extrakte der Schilddrüse, des Hodens, der Leber, der Milz und des Muskels auf das Gewebewachstum in vitro untersucht. Die meisten Organextrakte regen das Wachstum von Bindegewebskulturen an, nur Leberextrakt hemmt es. Homogene und autogene Extrakte verhalten sich in dieser Hinsicht gleich. Sie behalten längere Zeit ihre Wirksamkeit, auch das Wachstum der Kulturen von Parenchymzellen wird durch Gewebsextrakte in bestimmter Weise beeinflußt, einige wirken hemmend, andere anregend.

Schiefferdecker (Bonn).

Russelt, D. G., The effect of gentian violet on protozoa and on tissues growing in vitro, with especial reference to the nucleus (Journ. Exper. Med. vol. **20**, no. 6, 1914, p. 545—555; Zentralbl. f. Biochemie u. Biophysik Bd. **17**, 1915, No. 22, p. 879—880).

Kulturen von embryonalem Gewebe und solchem erwachsener Frösche wachsen unter Zusatz von Gentianaviolett in Konzentrationen, die ausreichen, das Bakterienwachstum vollständig zu hemmen. Das Gewebewachstum in vitro geht noch weiter bei Zusatz von 1 : 20000 Gentianaviolett, während der Bacillus subtilis schon bei einer Konzentration von 1 : 1000000 getötet wird. Diesen Umstand kann man benutzen, um die bakterielle Verunreinigung von Kulturen in vitro zu verhüten. Gentianaviolett scheint elektiv auf das Gewebe zu wirken.

Schiefferdecker (Bonn).

Herxheimer, K., Über die Darstellung membranartiger Bildungen im menschlichen Gewebe (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. **52**, 1915, No. 40, p. 1040).

Wenn man normale Organe des menschlichen Körpers mit der folgenden Methode färbt, so erhält man nach Angabe des Verf. eine spezifische Färbung der Oberfläche von manchen Organen, die auf andere Weise, wie es scheint, nicht ausgeführt werden kann. Es handelt sich um eine Färbung mit der Azur-Eosinlösung von Giemsa und Entfärbung mit Gerbstoffen. Die Spezifität der Darstellung hängt von der Entfärbung ab. Außer der erwähnten Giemsa-Lösung ergaben noch positive Resultate: Thionin, Karbolwasser-Gentianaviolett, Dimethylthionin, Fuchsin, Parafuchsin, Karbolfuchsin, May-Grünwald-Farbstoff, Kresylechtviolett, Azur I, polychromes Methylenblau, Methylgrün-Pyronin, Toluidinblau. Es gibt sicher noch mehr basische Anilinstoffe, die sich zu dieser Färbung eignen, die in Rede stehenden Organe wurden jedoch am besten mit der Giemsa-Lösung dargestellt. Zunächst dienten zur Differenzierung Gerbstoffe, wie sie zum Gerben von Leder gebraucht werden. Am besten gelang die Methode mit Caprinde, Gerbrinde, Parkia africana- und Mimosarinde. Gute Resultate ergaben auch: Quebracho-Holzrinde, Divi-Divi, Myrobulanen, Malletrinde, auf 20 cc destillierten Wassers kommen 5 Tropfen einer solchen konzentrierten Gerbstofflösung. Die zuerst benutzten Gerbstofflösungen waren $^1/_2$ bis 2 Jahre alt und ergaben gute Resultate. Weit weniger wurde mit frischen, 1 bis 2 Wochen alten Gerbstofflösungen erreicht. Wurden diese aber mit einer 0·25prozentigen Lösung von Kalium permanganicum versetzt (der verdünnten Gerbstofflösung wurde soviel von dieser Lösung zugesetzt, bis die Röte verschwand), so fiel Braunstein aus, die Lösung konnte filtriert und nach nochmaligem Zusatze von verdünnter Gerbstofflösung mit ebenfalls gutem Resultate angewendet werden. Es war also danach der Prozeß, der vorher lange Zeit gebraucht hatte, künstlich in wenigen Minuten durch Oxydation vollendet worden. Jetzt hat Verf. auf die Gerbstoffe fast ganz verzichtet und Tanninlösungen angewendet, von denen sich die 0·25prozentige Tanninlösung am besten bewährt hat. Methode: Fixierung in Formolalkohol. Die möglichst dünnen Schnitte werden 36 bis 48 Stunden lang in Giemsa-Lösung (2 bis 3 Tropfen Azur-Eosin auf 1 cc destillierten Wassers) im Brutschranke gefärbt, dann 1 bis 2 Stunden lang in destilliertem Wasser ausgewaschen, hierauf in der Tanninlösung 30 Minuten und länger entfärbt, sorgfältig lufttrocken gemacht und endlich durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen. Da bei der Giemsa-Lösung Niederschläge häufig vorkommen, macht Verf. darauf aufmerksam, daß diese von dem Tempo der Mischung abhängen, so zwar, daß bei schnellerer Mischung wenig oder keine Niederschläge, bei langsamerer viel Niederschläge auftreten. Die zu beschreibenden Strukturen traten auch, allerdings anders gefärbt und gröber, hervor, wenn man nach dem Gerbstoffe Eisenchlorid auf die Schnitte einwirken ließ. — Verf. ist der Meinung, daß die in den alten Lösungen der Gerbstoffe enthaltenen organischen Säuren, die sich durch Zersetzung gebildet haben, die Färbung begün-

stigten. Daß die Säure die spezifische Färbung gelingen läßt, geht auch daraus hervor, daß Essigsäure oder Oxalsäure und anderseits Salzsäure, in ganz verdünnter Lösung zu der 0·25prozentigen Tanninlösung, zu der Mimosa- und zur Parkia africana-Lösung zugesetzt, die Strukturen deutlich erhalten zeigten. Ebenso gelang die Färbung mit Giemsa-Lösung und Differenzierung mit verdünnter Essig- oder Salzsäurelösung. Die Resultate waren nicht so gut, wie die mit der obigen Methode erhaltenen. Als Ursache hierfür dürfte die besondere Säure anzusehen sein, die sich bei der Zersetzung der Gerblösungen bildet. — Was nun die für diese Methode geeigneten Organe anlangt, so handelte es sich um Konturen, die deutlich hervortreten zunächst am Bindegewebe in der Haut und allen anderen bindegewebigen Organen. Jede an sich rot gefärbte Bindegewebsfaser hat einen azurblauen Kontur, der einen membranartigen Eindruck macht. Verf. ist in der Tat geneigt, hier eine Membran anzunehmen. Besonders finden sich diese blauen Membranbildungen auch regelmäßig an der Basalmembran, und zwar auch auf der der Epidermis zugekehrten Seite. Es könnte sich ja auch um eine Oberflächenfärbung an der Bindegewebsfaser handeln, doch spricht hiergegen, daß zunächst die ganze Bindegewebsfaser gefärbt wird und nach der Entfärbung die Konturen elektiv gefärbt bleiben. Weiter treten durch diese Färbung auch die Konturen der Hornfasern, der Herzmuskelfasern, der Fasern der Haarbalgmuskeln, weiter auch die Konturen von Zellen und Kernen hervor. Bei Epithel- und Endothelzellen, bei Lymphozyten, bei roten Blutkörperchen ist dies sehr deutlich. Endlich sieht man mit dieser Methode feinste Fasern an Talgdrüsen, Schweißdrüsen, Prostatadrüsenschläuchen und endlich an der Intima der Blutgefäße, sowie an den Haarbälgen. Besonders deutlich treten auch die Netze im Haarmarke hervor. Nach Verf. sprechen alle diese Tatsachen dafür, daß es sich bei den Konturen der Bindegewebsfasern um bisher unbekannte Strukturen handelt.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Asvadourova, N., Recherches sur la formation de quelques cellules pigmentaires et de pigments (Arch. d'Anat. Micr. t. **15**, 1913, p. 153—314 av. 2 pl.).

Zur Untersuchung wurden benutzt die Leber und Milz von einer Reihe von Amphibien, die Leber von verschiedenen Reptilien und von Frosch-, Kröten-, Triton- und Salamanderlarven, Leber, Milz, Darm-Peritoneum und besonders der Schwanz in verschiedenen Entwicklungsstadien. Ferner wurden benutzt das Netz und das subkutane Zellgewebe von jungen Säugern (Katze, Maus, Ratte, Kaninchen), die Milz des Pferdes, die Milz von Scyllium. Ferner wurden noch benutzt Embryonen von Sepia, Amöba dysenterica, Sklerostomen aus dem Darme des Pferdes. Ferner wurde experimentelles Material verwendet: durch intraperitoneale oder intravenöse Injektion von

destilliertem Wasser wurde Hämolyse erzeugt bei drei Fröschen, durch intravenöse oder subkutane Injektion von Toluylendiamin bei Kröten, einer Larve von Alytes, einem Triton, zwei Mäusen, von denen Milz und Leber untersucht wurden. Bei fünf Mäusen endlich wurde fremdes Blut eingespritzt (vom Meerschweinchen), untersucht wurden Leber und Milz. Bei drei Fröschen wurden in das Blut ausgewaschene Blutkörperchen eingespritzt nach den Angaben von Hammarsten zur Herstellung des Stromas. — Zur Färbung wurden in erster Reihe Vitalfärbungen benutzt mit Neutralrot, Brillantkresylviolett, Nilblausulfat, Methylenblau, Bismarckbraun, Janusgrün. Auf diese Weise wurden Färbungen von ganzen Larven erzielt, die einige Augenblicke bis zu mehreren Tagen in dem sehr schwach gefärbten Wasser lebten. Einige erwachsene Batrachier wurden in derselben Weise gefärbt, oder dadurch, daß man ihre Organe in die Farbflüssigkeit einlegte. Ebenso wurden auch das große Netz und das subkutane Zellgewebe von jungen Säugetieren gefärbt. Die Lösungen müssen frisch bereitet sein. Eine große Anzahl dieser Präparate wurden zu Dauerpräparaten gemacht durch Fixierung der Farbe entweder mittels Pikrinsäuremischungen (Flüssigkeit von Lenhossék, von Bouin), oder mittels der Flemmingschen Flüssigkeit, oder durch 5prozentige Formollösung. Diese letztere wird am meisten empfohlen. Aufgehoben wurden die Präparate in Damarlack, oder in der Mischung von Apáthy, oder in dem Zedernholzöl für Immersion. Eine sehr große Menge von Stücken wurden in verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten fixiert: in Flemmingscher Flüssigkeit, in der von Benda, von Altmann, von Bouin, von Regaud, von Perényi, in Sublimatlösung, in Zenker-Formol usw. Färbungen wurden in geeigneter Weise ausgeführt, so auch für die Mitochondria. Endlich wurde an vielen Stücken, die in den Flüssigkeiten von Flemming oder Bouin fixiert waren, das Eisen nachgewiesen mit der Berlinerblau-Methode und mitunter mit Ammoniumsulfat.

Schiefferdecker (Bonn).

Ballowitz, E., Über die Erythrophoren und ihre Vereinigungen mit Iridozyten und Melanophoren bei Hemichromis bimaculatus Gill. Vierter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren und der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 193—219 m. 23 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Untersuchungen werden hauptsächlich durch den Umstand wesentlich erschwert, daß die roten (und auch gelben) Farbstoffe dieser Buntzellen mit wenigen Ausnahmen Lipochrome und als solche in Alkohol leicht löslich sind, so daß sie sich nicht gut konservieren lassen. Auch verändern sie sich nach dem Tode sehr bald, wodurch der feinere Bau der Zellen zerstört wird. Man ist deshalb darauf

angewiesen, vorwiegend lebendes Gewebe von frisch getöteten Tieren für die Präparate zu benutzen. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Beutel, E., Theorie und Praxis der Hornfärbung (Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **29**, 1915, H. 28, p. 170—173).

Befaßt sich die zusammenfassende Veröffentlichung auch nur mit solchen Färbungen, welche das Horn technisch veredeln sollen, so sind die Angaben zum Teil doch auch für die histologische Färbung von Interesse.

Gebleicht wird mit Wasserstoffsuperoxyd. Selbst das Pigment des schwarzen Büffelhorns wird durch diese Oxydation beseitigt.

Die Wirksamkeit der Beizen beruht auf dem Schwefelgehalt des Horns. Eine wässerige Bleinitratlösung färbt tief ebenholzschwarz. War eine Bleichung vorhergegangen, so muß die Bleilösung alkalisch gemacht werden, um noch eine Schwefelwasserstoffentwicklung herbeizuführen. — Führt man das Schwefelblei oder das aufgenommene überschüssige Bleinitrat durch Behandlung mit Salzsäure in Chlorblei über, so entsteht hierbei ein irisierender Seidenglanz.

Teerfarbstoffen gegenüber verhält sich Horn ähnlich wie Schafwolle. Besonders sind die sauren Farbstoffe zur Färbung geeignet. Entweder das Farbbad oder das Horn selbst sollte etwas mit Säure vorbehandelt sein. — Läßt man Farbstoffgemische einwirken, so zeigt sich, daß die einzelnen Farbstoffe ganz verschieden rasch in das Horn eindringen. *Liesegang (Frankfurt a. M.).*

Waelsch, L., Über experimentelle Erzeugung von Epithelwucherungen (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **42**, 1916, p. 107—116, m. 1 Tfl.).

Nach negativen Resultaten an Salamanderlarven durch subkutane Injektion von Scharlachöl oder Aufschwemmungen von steriler Kieselgur und von Lycopodiumsporen in Wasser und Öl zu erhalten, konnte hochgradige Zellvermehrung im Hautepithel hervorgerufen werden, wenn die Reizmittel (Scharlachöl und Kieselgur) direkt auf eine größere Schnittwunde der Haut am Rumpfe gebracht wurden und die Versuchstiere nach der Operation nicht direkt in Wasser kamen, sondern erst für 1 bis 2 Stunden in einer feuchten Kammer, gut mit Ausnahme der Wundstellen mit nassem Filtrierpapier bedeckt, gehalten wurden.
E. Schoebel (z. Zt. Leipzig.)

Dubreuil, G., Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la lignée connective, descendants du lymphocyte (Arch. d'Anat. Micr. t. **15**, 1913, p. 53—151 av. 5 pl.).

Verf. hat bei seinen Untersuchungen die zu untersuchende Flüssigkeit nicht auf dem Deckgläschen ausgebreitet, sondern versucht, eine

möglichst vollkommene Konservierung der Zellen zu erhalten, wie sie in der Lymphe des Ductus thoracicus schwimmen. Die zu untersuchende Flüssigkeit wird mit Hilfe einer Pipette dem lebenden Tiere entnommen und in die mehrfache Menge ihres Volumens einer 0·5- bis 1·0prozentigen Osmiumsäurelösung geblasen, die in einem Zentrifugenröhrchen enthalten ist. Nach einer Fixierung von etwa 1 Stunde füllt man das Röhrchen mit destilliertem Wasser auf, zentrifugiert und dekantiert. Der Bodensatz wird in einer reichlichen Menge von absolutem Alkohol hin und her bewegt, um ihn rasch zu entwässern. Eine neue Zentrifugierung ergibt einen Bodensatz, der direkt in eine schwache Zelloïdinlösung eingeschlossen werden kann. Die Lösung muß so verdünnt sein, daß, wenn man einen Tropfen fallen läßt, sich dieser von selbst zu einer dünnen Schicht ausbreitet. Die Menge der Zelloïdinflüssigkeit richtet sich nach der Größe des Bodensatzes, dessen Elemente man durch einfaches Hin- und Herbewegen verteilt. So kann man die Formelemente der Flüssigkeit bis zum Augenblicke der Untersuchung aufheben, man soll indessen nicht zu lange warten. Will man ein Präparat anfertigen, so schüttelt man die Zelloïdinlösung etwas, entnimmt mit einer Pipette ein wenig davon, und läßt einen Tropfen auf ein sehr reines Deckgläschen fallen. Der Tropfen breitet sich sofort aus und man bringt das Gläschen, bevor es trocknen kann, in 80grädigen Alkohol. Das Zelloïdin gerinnt sofort, bewahrt seinen Platz und verhindert eine jede Abplattung der Zellelemente, die ihre kugelige Form bewahren. Die Präparate werden gefärbt mit Eisenhämatoxylin nach einer Beizung in einer Lösung von Eisenalaun mit Zusatz von 1 Prozent Schwefelsäure. Je nach der mehr oder weniger langen Einwirkung der Osmiumsäure färben sich auf diese Weise entweder die Kerne, oder die Kerne und die Sekretkörner, oder die Kerne und die Mitochondrien, oder die Mitochondrien allein, während der kaum gefärbte Kern mitten im Protoplasma liegt, das einen leicht rauchbraunen Ton annimmt. Bei Anwendung der Osmiumsäure zur Fixierung erhält man die Zellen isoliert, da die Fibrinkoagula, welche sonst so reichlich und hinderlich sind, auf ein Minimum reduziert werden. Ein gutes Präparat muß ungefähr 10 Zellen in dem Gesichtsfelde eines Immersionssystemes zerstreut liegend zeigen und, wenn die Zelloïdinlösung hinreichend verdünnt war, müssen fast alle diese Zellen in derselben optischen Ebene liegen. Zur Differenzierung der Eisenhämatoxylinfärbung dient eine 0·5- bis 1prozentige Lösung von Eisenalaun. — Zur Untersuchung wurden verwendet der Ductus thoracicus von Hund und Kaninchen und die Peritonealflüssigkeit dieser beiden Tiere. *Schiefferdecker (Bonn).*

Weber, A., Le chondriome des leucocytes polynucléaires du sang du gongyle [Gongylus ocellatus Gmelin] (Bibliogr. anat. t. **23**, 1913, p. 96—104 av. 6 Figg. im Text).

Das Blut von Gongylus enthält eine ziemlich große Menge von weißen polynucleären Blutkörperchen mit zwei bis vier Kernen. Die Blutkörperchen enthalten sehr stark lichtbrechende Körnchen, von denen einige sehr feine sich mit Eosin färben. Das polychrome Methylenblau von Unna färbt einige wenige Körnchen dunkelblau. Das Triazid von Ehrlich färbt die großen, stark lichtbrechenden Körnchen violett, während die Kerne fast ungefärbt bleiben. Nach Ausbreiten des Blutes auf dem Deckgläschen, Fixierung in Alkohol-Äther oder der Trichloressigsäure-Sublimat-Mischung von M. Heidenhain ließ sich eine Sphäre mit zwei sehr feinen, dicht aneinander gelagerten und leicht stäbchenförmig verlängerten Centriolen nachweisen. Es war dabei sehr schwierig, die Fäden der Sternstrahlung zu sehen, welche durch die in dem Cytoplasma unregelmäßig zerstreut liegenden Körnchen verdeckt werden. Zur Färbung der Mitochondrien wurde die Methode von Regaud angewendet in der Modifikation von Regaud, Nicolas und Favre. Das Blut wird zuerst auf der Glasplatte ausgebreitet, dann, nach sehr schneller Austrocknung, für 1 bis 2 Tage in die von Regaud angegebene Formol-Kaliumbichromat-Mischung gebracht. Dann verblieben die Präparate 2 Monate lang in der 3prozentigen wässerigen Lösung von Kaliumbichromat. Die Beizung geschieht bei einer Temperatur von 37° in einer frisch zubereiteten 4prozentigen Lösung von Eisenalaun. Färbung bei Stubentemperatur in der Hämatoxylinlösung von Heidenhain, der 10 Prozent Glyzerin zugesetzt sind. Differenzierung in einer schwachen Lösung von Eisenalaun. *Schiefferdecker (Bonn).*

Bertrand, J., Un nouveau procédé pour la recherche des mitochondries (Bibliogr. anat. t. **23**, 1913, p. 304—305).

Verf. unterzieht die bisherigen Färbungsmethoden für die Mitochondrien einer Kritik, aus welcher hervorgeht, daß diese Methoden noch wesentliche Mängel haben. Auf Grund der Verwandtschaft der Mitochondrien mit den Lipoiden hat Verf. die folgende neue Technik ausgearbeitet: 1) Fixierung kleiner Gewebstückchen während 48 Stunden in der Formol-Chromsäure-Essigsäure-Mischung von Ciaccio:

Formol	20·0	Vol.-Teile
Kaliumbichromat, 5prozentige Lösung	80·0	„ „
Essigsäure	12—15	Tropfen

2) Allmähliche Chromierung in der 3prozentigen Lösung von Kaliumbichromat etwa während einer Woche. 3) Längeres Auswaschen der Stücke in fließendem Wasser. 4) Nach allmählicher Entwässerung in steigendem Alkohol Einbettung in Paraffin, dünne Schnitte. 5) Färbung mit Hämatoxylin nach Heidenhain mit Glyzerinzusatz (Regaudsche Lösung) nach einer 24stündigen Beizung in einer 5prozentigen Lösung von Eisenalaun bei 40°. 6) Differenzierung in

einer schwachen Lösung von Eisenalaun. — Verf. hat mit dieser Methode Körnchen von demselben Aussehen erhalten, wie die mit der Regaudschen Flüssigkeit dargestellten Mitochrondien, in der nämlichen Anordnung, in Leukozyten, Muskeln, Nierenzellen und Darmzellen. — Die hier mitgeteilte Methode ist einfach, schnell, sicher, die Fixierung wird begünstigt durch das Vorhandensein einer sehr geringen Menge von Essigsäure. *Schiefferdecker (Bonn).*

Tello, J. F., Una variación más de los métodos de la plata para la rápida impregnación del tejido conectivo (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **12**, 1915, fasc. 4, p. 285—288).

Verf. hat eine neue und, wie er angibt, schnelle und schöne Methode zur Färbung des Bindegewebes mit Silber gefunden. Methode: 1) Schnitte mit dem Gefriermikrotom von frisch aus dem Körper entnommenen Organen. Die Schnitte müssen so fein sein, wie die Natur des Organes es irgend erlaubt. Im allgemeinen erreicht man eine weit größere Feinheit, als die Weichheit des Organes annehmen läßt. So hat Verf. Schnitte von 15 μ durchschnittlich und in günstigen Fällen bis zu 10 μ erhalten von der Leber, Niere, dem Herzen, der Zunge usw. Je frischer die Leiche ist, um so besser schneiden sich die Organe, und bei gleicher Zeitdauer nach dem Tode sind die Organe widerstandsfähiger, welche in der Leiche selbst verblieben sind, als die, die außerhalb derselben aufbewahrt waren, da sie nicht in der niederen Temperatur verblieben sind. 2) Die Schnitte kommen für 10 bis 15 Minuten in eine 20prozentige Formollösung. Die Einwirkung des Formols wirkt günstig bis zu einem ganz bestimmten Punkte hin, darüber hinaus wirkt sie immer weniger günstig und nach 24 Stunden sind die erhaltenen Imprägnationen schon sehr schlecht. Mit einer schwächeren Lösung würde man die Zeitdauer der Einwirkung wahrscheinlich ohne eine Schädigung verlängern können. 3) Ohne vorheriges Auswaschen Übertragen in eine 1·5prozentige Silberlösung für 10 bis 15 Minuten. In diesem Silberbade können die Schnitte viele Stunden verbleiben ohne eine Schädigung für die Färbung des Bindegewebes. Bei zu langer Einwirkung werden die übrigen Teile immer stärker gefärbt, während die Bindegewebsfibrillen blasser werden. Jedenfalls kann man die Schnitte 24 Stunden liegen lassen und so kann man sie bis zum nächsten Tage aufbewahren. 4) Rasches Auswaschen in destilliertem Wasser in zwei Schälchen oder besser in einem mit Zusatz von einem Tropfen Ammoniak. 5) Die Schnitte werden übertragen in ein Schälchen mit 5 cc destillierten Wassers mit Zusatz von 15 Tropfen ammoniakalischen Silbers für 5 bis 10 Minuten. Das ammoniakalische Silber wird hergestellt wie für die Methode von Bielschowsky: Zu einer bestimmten Menge einer 10- bis 20prozentigen Lösung von Silbernitrat setzt man tropfenweise eine 40prozentige Lösung von Natrium causticum, bis kein Niederschlag mehr ausfällt,

man läßt absetzen und wäscht wiederholt mit destilliertem Wasser aus, man gießt vorsichtig das zum letzten Auswaschen gebrauchte Wasser ab und fügt Tropfen von Ammoniak hinzu bis zur völligen Wiederauflösung, wobei man Sorge tragen muß, diesen Zeitpunkt nicht zu überschreiten, schließlich setzt man destilliertes Wasser hinzu bis die ursprüngliche Flüssigkeitsmenge wieder erreicht ist. Verbleibt das Präparat in diesem Bade kurze Zeit, so ist die Imprägnation starkkörnig, verbleibt es darin zu lange, so wird das Bad dunkel und es treten Niederschläge auf. 6) Rasches Auswaschen in destilliertem Wasser. 7) Übertragen in eine 20prozentige Formollösung als Reduktionsflüssigkeit, um die Schwärzung des Silbers herbeizuführen. — Die mit dieser Methode erhaltenen Resultate sind nach Verf. ausgezeichnet: Die kollagenen Fasern sind dunkelbraunrot bis schwarz gefärbt, die Zellen, Kerne und sonstigen Elemente des Gewebes sind nicht imprägniert, können aber mit Anilinfarben und mit Karmin gefärbt werden. Die Selektion der Färbung ist eine so hervorragende, daß in Organen, wie z. B. in der Niere, wo sich das Bindegewebe zu Membranen entwickelt hat, welche die Kanälchen und die Glomeruli einhüllen, oder in der Leber, wo sich das Bindegewebe um die Läppchen herumlegt, sehr dicke Schnitte imprägniert werden können, die bei schwachen Vergrößerungen ähnlich wie Korrosionspräparate den Grundbau des Organes erkennen lassen. Verf. hat bis jetzt mit dieser Methode untersucht: Leber, Niere, Milz, Herz, Hypophyse, Ganglien, Mamma, Aorta, Großhirn usw. im normalen und pathologischen Zustande (Tumoren usw.) von Menschen und Kaninchen und will die Resultate dieser Arbeiten anderweitig mitteilen. Er hat weiter die Methode auch angewendet bei Stücken, die einige Zeit in Formol gelegen hatten, und hat auch mit solchen gute Resultate erhalten. Wenn Schnitte nach Verweilen in 20prozentiger Formollösung in eine konzentrierte Tanninlösung gebracht werden, bevor sie in das Silber kommen, so erhält man ausgezeichnete Imprägnationen des Bindegewebes auch bei Stücken, die lange Zeit in Formol verweilt haben, ähnlich denjenigen, die man bei frischen Organen erhält, und denen, die bei dem Verfahren von Achúcarro erhalten werden. Es macht den Eindruck, als wenn das Tannin den kollagenen Fasern die Neigung zu dem Silber wiedergibt, welche sie durch den verlängerten Aufenthalt in dem Formol verloren haben. Auf diese Weise hat Verf. auch in Epitheliomen, die in Formol konserviert waren, indem er die Tanninwirkung einschob, wie eben angegeben, eine gute Imprägnation der intrazellulären Fibrillen der Malpighischen Schicht erhalten.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Hulisch, M., Über die Darstellung des Stützgerüstes der Sarkome mittels der Tanninsilbermethode von Achúcarro-Ranke (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **60**, 1915, H. 2, p. 245—270).

Die Verfasserin hat im wesentlichen die von Ranke (Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie, math.-phys. Klasse, Abt. B, 1913) empfohlene Methodik angewendet. Das Wesentliche ist dabei, daß die Schnitte von den sonst beliebig fixierten Objekten mit Tannin gebeizt und dann mit der ammoniakalischen Silberlösung von Bielschowsky und schließlich zur Reduktion mit Formol behandelt werden. Nach Verfasserin ist zum guten Gelingen auch eine Vorbehandlung mit Formol nötig. Achúcarro gibt direkt Formolfixierung als nötig an, Ranke, der auch andersgehärtete Objekte verwandte, legte die Schnitte doch stets noch 8 oder mehr Stunden in Formol. Auffallend ist, daß durch die Tanninmethode neben den Fasern auch die chromatischen, selber sauren Kernsubstanzen aufs schönste imprägniert werden, während das Plasma nur eine hellgelbliche bis bräunliche Färbung und überhaupt keine Imprägnierung zeigt. Verfasserin fand, wie das auch sonst von Silberfärbungen beschrieben wird, durch denselben Prozeß in dem einen Gewebsbestandteile Färbung und in anderen Imprägnation bewirkt. Achúcarro und Ranke empfehlen die Anwendung sehr dicker Schnitte von 15 bis 20 μ. Die Verwendung dünnerer Schnitte ist allerdings sehr mühsam, denn bei der komplizierten Methode, besonders bei dem raschen Bewegen im Silberbade, werden viele von ihnen zerrissen. Der Erfolg der Behandlung ist aber an dünnen Schnitten ebensogut, vielleicht noch besser. Dazu kommt der Vorteil klarerer und zarterer Bilder, während die dickeren Schnitte besser die Verfolgung einzelner Fasern und Fasergruppen gestatten. Nach mehrfachen Versuchen bevorzugte die Verfasserin eine Schnittdicke von 10 μ. Ranke empfiehlt in seiner Arbeit nach der Imprägnation noch die Nachfärbung mit Eosinthionin-Methylenazur, also nach seinen totalen Imprägnationen von Plasma, Kernen und Fasern noch Behandlung mit zwei basischen und einem Plasmafarbstoffe. Verfasserin ist hiervon ganz abgekommen und verwandte auch zu den Kontrollpräparaten nur Weigert-van Gieson oder Hämatoxylin-Eosin-Färbung, da das Eosin bei richtiger Behandlung die Plasmastrukturen sehr gut darstellt. Gemäß der Angabe von Ranke, daß die Methode in gleicher Weise für Gefrier-, Paraffin- und Zelloïdinschnitte passend sei, hat Verfasserin an vielen Paraffinobjekten die Imprägnation versucht, doch waren die Ergebnisse gegenüber den Gefrierschnitten so unbefriedigend, daß sie die Benutzung solcher Schnitte nur dringend widerraten kann. An Zelloïdinschnitten scheint sich die Methode besser anwenden zu lassen, doch hatte Verfasserin nicht genügend Zeit, um hierüber genügende Erfahrungen zu sammeln. Der schwierigste Punkt ist das Bräunen der Silberlösung. Hier entscheidet nach Verfasserin oft 1 Sekunde darüber, ob die Imprägnation zu schwach, gut, oder ob der ganze Schnitt zu dunkel wird. Aus diesem und auch aus anderen Gründen dachte Verfasserin an eine Differenzierung nach der Silberbehandlung. Sie wollte damit die Möglichkeit gewinnen, die Silberimprägnierung und die Silberfärbung

aus allen Gewebsteilen, außer den Fibrillen, zu entfernen. Das ist sicher möglich, da diese als eiweißärmere Bestandteile nicht nur die Silberlösungen besonders gut aufnehmen, sondern jedenfalls auch das Silber selbst länger festhalten. Zu dieser Differenzierung wählte Verfasserin die rauchende Salpetersäure in einer die Gewebe nicht schädigenden Verdünnung. Auf diese Weise glückte es ein paarmal, Präparate, die zu dunkel geworden waren, aufzuhellen und ganz elektiv Imprägnierungen der Fasern und der Chromatinsubstanz der Kerne zu erhalten, während alles übrige Gewebe entfärbt wurde. Solche Präparate geben dann, mit Eosin, vor allem aber mit van Gieson nachgefärbt, ganz wundervolle, klare Bilder. Trotzdem kann diese Methode nicht zur Nachahmung empfohlen werden, da sie riskant ist und viele Präparate kostet, weil eine genaue Dosierung wegen der Eigenschaften der rauchenden Salpetersäure nicht möglich ist. Die erhaltenen schönen Präparate lassen aber doch erkennen, daß eine Möglichkeit der Differenzierung auf diesem oder einem anderen Wege gegeben ist. *Schiefferdecker (Bonn).*

Greschik, E., Die Entstehung der keratinoiden Schicht im Muskelmagen der Vögel (Jahrb. 1 [Jahrg. 21] d. „Aquila“ 1914, p. 99—120 [ungarisch u. deutsch]).

Die keratinoide Schicht tritt bei den verschiedenen Vögeln je nach der Nahrung in verschiedener Stärke auf: Als sehr schwache, weiche Schicht im allgemeinen bei den fleischfressenden Raubvögeln und als stärkste bei den körnerfressenden Hühnerarten. Dieser Umstand mußte berücksichtigt werden. Schon aus rein technischen Gründen untersuchte Verf. zuerst den mit schwächerer Schicht versehenen Magen der Raubvögel, des Mäusebussards, Buteo buteo L., und den der Waldohreule, Asio otus L., ferner den Muskelmagen des Wendehalses, Iynx torquilla L., also den eines Insektenfressers, und endlich den des Haushuhnes, Gallus domesticus L. Auch Embryonen wurden untersucht, besonders um die Frage zu klären, was für Zellen eigentlich im Epithel vorkommen. Zu diesem Zwecke wurden benutzt Embryonen von Iynx torquilla und von Passer domesticus, und zwar ziemlich späte Stadien, da anzunehmen war, daß, wenn es zwischen den Zellen einen Unterschied gab, dieser in späteren Stadien deutlicher sein würde als in den frühen. Zum Vergleiche wurden herangezogen Schnitte vom Muskelmagen der Saatkrähe, Corvus frugilegus L., und des Dorndrehers, Lanius collurio L. Um die Ansicht derjenigen Forscher zu prüfen, welche die keratinoide Schicht im Muskelmagen für eine Hornbildung halten oder wenigstens auf der Oberfläche der Papillen eine Verhornung annehmen zu müssen glauben, wurden auch Schnitte vom Magen der Hausmaus, Mus musculus L., gemacht. Endlich, um auch den andern Zweig des Sauropsidenstammes zu berücksichtigen, wurde der Magen der grünen Eidechse, Lacerta viridis Gesn., untersucht. Neben dem normalen Muskelmagen wurden auch

solche untersucht, die durch Einspritzung von Pilokarpin gereizt waren. — Zur Fixierung wurde benutzt Alkohol-Formol nach Schaffer (Alkohol, 96prozentig, 2 Teile; Formol 1 Teil), von dessen Eigenschaft, Granula zu erhalten, Verf. sich schon früher überzeugt hatte. Im vorliegenden Falle erhielt diese Flüssigkeit sehr gut die die keratinoide Substanz bildenden Granula. Sehr gut war ferner Heidenhains „Subtrie“ (Sublimat-Trichloressigsäure-Essigsäure). Gefärbt wurde mit den Doppelfärbungen: Hämatoxylin- (Delafield) Thiazinrot und Heidenhains Eisenalaunhämatoxylin-Thiazinrot. — Von den mit stärkerer Muskulatur versehenen Mägen wurde die überflüssige Muskulatur entfernt, damit die Fixierungsflüssigkeit besser eindringen konnte. Die starke keratinoide Schicht des Huhnes wurde von einigen Stückchen ganz entfernt, auf anderen wurde sie auf einer Hälfte belassen. Das Verfahren ergab sehr lehrreiche Präparate und ist darum nötig, weil das noch nicht erhärtete Sekret unter der hart gewordenen Schicht als eine dicke Flüssigkeit die Papillen umgibt. Unterläßt man das Abziehen der Schicht, so erhält man von den Papillen der mit einer dicken keratinoiden Schicht versehenen Mägen keine gut fixierten Zellen, da das früher erwähnte halb flüssige Sekret, abgesehen von dem Widerstande, welchen die erhärtete Lage selbst ausübt, die vollkommene Wirkung der Fixierungsflüssigkeit vereitelt. — Verf. erwähnt sodann, es werde von den meisten Autoren angegeben, daß die keratinoide Schicht mit dem Mikrotommesser nur dann schneidbar ist, wenn man das Objekt möglichst kurze Zeit (1 Stunde) in dem 96prozentigen Alkohol läßt und den absoluten Alkohol gänzlich vermeidet. Bei diesem Verfahren ist, wenn das Schneiden der Schicht auch gelingen mag, das darunter befindliche Gewebe gänzlich unbrauchbar. Ohne vollkommene Entwässerung gibt es aber keine gute Einbettung und daher auch kein gutes Präparat. Verf. bettete sein Material ein durch absoluten Alkohol und Schwefelkohlenstoff in Paraffin und hatte über die Härte der Schicht selten Ursache zu klagen, mit einem guten Mikrotom gelangen 4 μ dicke Schnitte.

Schiefferdecker (Bonn).

Greschik, E., Histologie des Darmkanals der Saatkrähe [Corvus frugilegus L.] (Jahrb. 1 [Jahrg. **21**) d. „Aquila“ 1914, p. 121—136 m. 1 Tfl. [ungarisch u. deutsch]).

Zur Fixierung wurden benutzt: Konzentrierte Sublimatlösung, Sublimat-Eisessig, Sublimat-Trichloressigsäure-Essigsäure („Subtrie“), Zenkersche Flüssigkeit, Alkohol-Formol nach Schaffer, Tellyesniczkysche Flüssigkeit, Kopschsche Flüssigkeit, Pikrinsäure-Formol nach Regaud, Bendasches Verfahren (starkes Flemmingsches Gemisch mit weniger Essigsäure). Von allen diesen Flüssigkeiten bewährten sich am besten die sublimathaltigen, besonders „Subtrie“, außerdem das Bendasche Verfahren. Die Schnitte von den durch Schwefelkohlenstoff in Paraffin eingebetteten Stücken wurden gefärbt mit: Heiden-

HAINS Eisenalaunhämatoxylin-Thiazinrot oder Chromotrop, Hämatoxylin-(DELAFIELD)-Thiazinrot oder Chromotrop, nach der ZENKERschen Flüssigkeit mit MALLORY, die sublimathaltigen mit dem Gemische von EHRLICH-BIONDI, die mit dem BENDAschen Verfahren fixierten mit Kristallviolett. Zur Darstellung der elastischen Fasern wurden in Sublimat fixierte Schnitte gefärbt mit WEIGERTS Resorzin-Fuchsin-VAN GIESON. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Marchand, R., Les pores des alvéoles pulmonaires (Bibliogr. anat. t. **22**, 1912, p. 57—71 m. 7 Figg. im Text).

Die Lungen wurden fixiert durch Injektion von 90prozentigem Alkohol durch die Luftröhre oder durch einen Bronchus, je nach der Größe des Tieres. Die Alveolen waren danach gut ausgedehnt mit glatten Wänden. Dicke Schnitte erlaubten, die Alveolenwände flach zu sehen, die dünnen Schnitte ließen die Poren in verschiedener Form hervortreten. Die Präparate wurden gefärbt mit Hämalaun-Eosin oder mit Safranin-Pikrinsäure-Naphtholschwarz nach CURTIS. Diese beiden bei jedem Tiere zusammen angewendeten Methoden ergaben sehr gute Resultate, besonders die letztere, die dank dem Naphtholschwarz auch das amorphe Bindegewebe färbt. Zur Färbung der feinen elastischen Fasern diente die Methode von WEIGERT. Die Poren traten hierbei sehr klar hervor. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Katsunuma, S., Zur Frage der Naphtholblauoxydasereaktion des Nervensystems (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **60**, 1914, H. 1, p. 150—162).

Seitdem die Naphtholblauoxydasereaktion in die Histologie eingeführt worden ist, wurde sie schon vielfach von seiten der Physiologen und Pathologen benutzt und hat schon auf manche dunkle Fragen neues Licht geworfen. Im Laufe seiner Untersuchungen an ganz frischem Materiale unter Vermeidung der Berührung mit Wasser hat Verf. die Anwesenheit der Oxydasegranula an mehreren Stellen des Nervensystemes nachweisen können, wo sie bis jetzt von fast allen anderen Forschern vermißt wurden. Zwar ist diese Untersuchung noch nicht nach allen Richtungen abgeschlossen, sie hat aber schon zu einigen, besonders in bezug auf die Physiologie des Nervensystemes, bemerkenswerten Resultaten geführt. So nahm man beim negativen Oxydasebefunde im zentralen Nervensysteme bisher an, daß die Oxydation hier nicht in dem Maße rege sei, wie in anderen Organen. Ein positiver Befund der Oxydase in denjenigen Teilen des Nervensystemes, wo die Funktion rege sein muß, würde natürlich zu ganz anderen Gedanken führen und ihre Bedeutung in ganz anderem Licht erscheinen lassen, wie aus der vorliegenden Arbeit hervorgeht. — Zur Anstellung der Reaktion verfuhr Verf. im großen und ganzen nach der Angabe von v. GIERKE mit der Modifikation, daß die Schnitte, welche ohne jede Fixierung mit dem Gefriermikrotome hergestellt

waren, direkt mit dem fast völlig farblosen Gemische bis zu 1 p. M. oder noch stärker verdünnter α-Naphthol- und Dimethyl-p-Phenylendiamin-Lösungen einige Minuten lang gefärbt, dann ohne Abspülen in Wasser auf dem Objektträger aufgefischt und in Glyzerin oder Glyzeringelatine eingeschlossen wurden. Die Vorzüge dieser Modifikation bestehen darin, daß die Bilder einerseits viel klarer werden, und daß anderseits die Reihenfolge jeder positiv auftretenden Reaktion in einzelnen Geweben bzw. Zellarten leicht verglichen werden kann, zumal die Reaktion dabei etwas langsam auftritt. Da die Fermente der Gewebe den Charakter besitzen, schon in kurzer Zeit mehr oder weniger in das Wasser überzugehen, so hat sich Verf. besonders bemüht, die Schnitte, abgesehen von der Färbelösung, streng vor der Berührung mit Wasser zu hüten, wodurch man dem Verluste der Oxydase während der Manipulationen einigermaßen vorbeugen kann. Bei der Untersuchung des Nervensystemes sind diese Maßregeln besonders nötig. Untersucht wurde eine ganze Reihe vorher ganz gesunder Tiere: Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Katzen, Hühner und Affen. Nach Tötung der Versuchstiere durch Zuschnüren des Halses Entbluten aus der Carotis, Narkotisierung mit Äther oder Chloroform, Vivisektion usw. wurden ihnen die lebensfrischen nervösen Organe entnommen und sofort ohne jede Fixierung mit dem Gefriermikrotome verarbeitet. Außerdem wurden auch Untersuchungen angestellt an den Nerven von drei durch Operation amputierten menschlichen Extremitäten. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Cajal, S., Ramón y, Algunas variaciones fisiológicas y patológicas del aparato reticular de Golgi (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **12**, 1915, fasc. 2 u. 3, p. 127—227 m. 55 Figg. im Text).

Hauptsächlich wurden junge Tiere benutzt und die verschiedenen Vorschriften angewendet von Golgi, Veratti, Kopsch, Holmgren und dem Verf. selbst. Von allen Methoden ergab die besten Resultate die Imprägnation mit Silber nach Fixierung in Formol und Urannitrat. Die so erhaltenen Bilder erinnern sehr an die nach der Methode von Golgi erhaltenen (arsenige Säure, Alkohol, Formol). Die Methode war die folgende: 1) Stücke des frischen Gewebes (das Tier muß soeben erst getötet sein, weil der Golgische Apparat sehr veränderlich ist) kommen für 10 bis 14 Stunden in die folgende Flüssigkeit:

Formol	15 cc
Destilliertes Wasser	85 „
Urannitrat	1 g

Die Stücke sollen hin und wieder etwas bewegt werden, damit das Uransalz besser eindringt, das sowieso nur die oberflächlichen Schichten imprägniert. Wenn es daher nötig ist, ausgedehnte Schnitte zu haben,

ist es praktisch, zuerst eine Injektion in die Hauptarterie des Organs oder Gliedes mit der Fixierungsflüssigkeit zu machen. Die Flüssigkeit soll säurefrei sein. Verf. verwendet daher ein Formol, das einige Tage in Berührung mit einer größeren Menge von pulverisierter Kreide gewesen ist. Das Uranazetat, welches von Del Rio Hortega empfohlen worden ist, ergibt nicht so gute Resultate wie das Nitrat. Dieses ist zu einer guten Imprägnation nötig. Benutzt man nur Formol, so erhält man grobe und körnige Färbungen des Netzapparates, der sich außerdem nur unvollkommen von dem Protoplasma abhebt. Erhält man intensive Färbung, aber Körnung, so ist es praktisch, wie bei der Fixierung nach Golgi, der Uranlösung 30 Prozent Äthylalkohol oder Methylalkohol zuzusetzen. Bei diesem Zusatze, der die Feinheit des Silberniederschlages erheblich vergrößert, haben wir dann die folgende Formel:

Urannitrat	1 g
Methylalkohol oder Äthylalkohol	30 cc
Destilliertes Wasser	80 „
Formol	15—20 „

Die Zufügung von Alkohol zu der Fixierungsflüssigkeit kann nützlich sein für die Nervenzentren und Ganglien, wo die Reaktion energisch und eine Abschwächung nicht nötig ist, handelt es sich aber um Drüsen und andere schwierige Objekte, so wird man sich der gewöhnlichen Formel bedienen, da diese den Netzapparat am stärksten differenziert. Der Zusatz von Azeton, von Osmiumsäure und anderen Härtungsmitteln hindert die Reaktion. 2) Nach raschem Abwaschen der Stücke in destilliertem Wasser (einige Sekunden) kommen sie in ein Silberbad von 1·5 Prozent. Hierin verbleiben sie 36 bis 48 Stunden, je nach der Größe der Stücke. Sind diese klein oder wenig zahlreich, so verwendet man nur eine 1prozentige Silberlösung. Ein Ofen ist nicht nötig. 3) Nach raschem Abwaschen in destilliertem Wasser kommen die Stücke für 8 bis 24 Stunden in die folgende Reduktionsflüssigkeit, die fast identisch ist mit der von Golgi bei seiner neuen Methode benutzten:

Hydrochinon	1—2·0 g
Formol	15·0 cc
Wasser	100·0 „
Natriumsulfit	0·5 g

D. h. eine Menge von Natriumsulfit, die hinreichend ist, um in dem Bade sofort eine gelbliche oder hellkaffeebraune Färbung zu erzeugen. 4) Nach Abspülen der Stücke in gewöhnlichem Wasser werden sie in Alkohl gehärtet und in der üblichen Weise in Zelloïdin oder Paraffin eingebettet. Ist Eile nötig, so kann man auch Gefrierschnitte anfertigen. — Ist die Imprägnation gut gelungen, so tritt der Golgi-Apparat schwarz oder dunkelbraun auf einem durchsichtigen gelben Grunde scharf hervor. Nur die ersten Schnitte sind weniger gut, da der Grund zu dunkel und körnig zu sein pflegt. — Zur Kern-

färbung verwendet man am besten eine gut gereifte Lösung von Hämatoxylin, z. B. die von Ehrlich, oder eine basische Anilinfarbe (Thionin, Methylenblau, Safranin usw.). — Verf. bemerkt ausdrücklich, daß diese Uranmethode die besten Resultate im Nervensysteme von jungen Tieren ergibt (von der Geburt bis zu 20 Tagen). Man erhält hierbei oft so vollständige Präparate, daß der Golgi-Apparat in allen nervösen und gliösen Elementen gefärbt ist. Die geeignetsten Tiere sind Kaninchen und Katze. Bei erwachsenen Säugetieren ist das Ergebnis weniger sicher. Es finden sich indessen gelegentlich ausgezeichnete Imprägnationen im Gehirne und in den Ganglien bei erwachsenen Kaninchen und Katzen, bei dem Hunde von wenigen Monaten und auch bei dem erwachsenen Menschen, falls die Stücke ganz frisch sind. Jedenfalls ist die Reaktion beim Erwachsenen mehr oder weniger unvollständig und man muß daher, falls die Natur der Untersuchung es verlangt, junge Tiere wählen. Außer dem Nervengewebe werden fast alle andern Gewebe auf die genannte Weise gut imprägniert. So erhält man ausgezeichnete Bilder in den Epithelzellen der äußeren Haut und der Schleimhäute, in den Drüsen (Parotis, Submaxillaris, Pankreas, Nebenniere, Thymus, Schilddrüse, Hypophyse und Epiphyse, Hoden, Ovarium, in den Drüsen des Verdauungsapparates usw.), in den Bindegewebszellen, Fettzellen, Knochenzellen, Knorpelzellen und Odontoblasten, ferner in den Zellen des Knochenmarkes, der Milz und der Lymphknoten, sodann in allen embryonalen Elementen usw. Von den Drüsen erwies sich nur die Leber ungünstig. Bei den niederen Wirbeltieren (Frösche, Reptilien usw.) und bei den Wirbellosen sind die Ergebnisse nicht so gut wie bei den Säugetieren. Häufig versagt hier die Methode völlig, ebenso wie die neue Methode von Golgi, die ebenfalls die besten Resultate bei jungen Säugetieren ergibt. Trotzdem hat Sánchez mit dieser Methode bei bestimmten Wirbellosen brauchbare Resultate erhalten (Muskelzellen von Hirudo, Pharynx von Gastropoden usw.), die vergleichbar sind mit den von Poluszynsky, Bialkowska, Kulikowska und Weigl bei den Ganglien der Krustazeen und anderer Wirbellosen erhaltenen. — Außer dem Golgi-Apparate färben sich mit dieser Methode eventuell die Chondriosomen der Drüsen und der ersten Entwicklungsstadien der Embryonen. Diese Reaktion pflegt auszufallen (recaer) in wenig ausgedehnten Gebieten der Stücke und unter noch nicht bekannten Bedingungen. Verf. hat den Eindruck, daß die Fixierung bei Zusatz von Methylalkohol eher als die gewöhnliche Formel geeignet ist, sowohl bei jungen Tieren wie bei erwachsenen das Chondriom des Pankreas und der Speicheldrüsen zu imprägnieren. Er wird hierüber später Mitteilung machen.

Schiefferdecker (Bonn).

Röthig, P., Weitere Erfahrungen über Vital-Scharlach VIII (Neurol. Zentralbl. Jahrg. **34**, 1915, No. 7, 8, p. 265—266).

Im vorigen Jahre hat Verf. einen neuen Farbstoff empfohlen „Vital-Scharlach VIII“ zur Nachfärbung der Weigert-Pal-Präparate des Zentralnervensystemes und ferner zur gleichzeitigen Darstellung von Nervenfasern und Nervenzellen (Neurol. Zentralbl. 1914, No. 4; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1915, p. 506—507). Die Methode hat sich weiter gut bewährt, und die Färbung ist unverändert geblieben. Verf. hat nun inzwischen gefunden, daß die Färbung versagt, wenn, wie es manchmal geschieht, die zur Weigert-Pal-Färbung bestimmten Schnitte mit Osmiumsäure vorbehandelt werden. Verf. hält übrigens nach seinen Erfahrungen diese Osmierung der Schnitte für überflüssig. Bei der gewöhnlichen Chromierung erhält man aber ausnahmslos sehr schöne Präparate. Wird die Nachfärbung zu dunkel und zu stark, so läßt man die Schnitte nach der Färbung 24 Stunden in 70prozentigem Alkohol, oder man verwendet von vornherein eine schwächere Farblösung (nur 5 cc konzentrierte wässerige Lösung von Vital-Scharlach VIII auf 100 cc destillierten Wassers) in Verbindung mit einem 24stündigem Aufenthalte der Schnitte in 70prozentigem Alkohol nach der Färbung. Eine solche Verdünnung der Farbflüssigkeit und ein so langes Verweilen der Schnitte in dem 70prozentigen Alkohol ist besonders für Präparate der Großhirnrinde geeignet. — Verwendet man das Verfahren ohne vorausgehende Färbung der Markscheiden, so erhält man Präparate, die den alten Karminpräparaten ähnlich sind. — Die Darstellung der Zellen des Zentralnervensystemes und ihrer Ausläufer gelingt auch an Paraffinschnitten gut. Die Schnitte kommen aus Leitungswasser bis zum nächsten Tage in die nach der Vorschrift des Verf. hergestellte Farbflüssigkeit (z. B. Rana-Gehirn nach Fixierung in Alkohol). Sie werden dann schnell durch die Alkoholreihe (70prozentiger, 96prozentiger, zweimal absoluter Alkohol) in einmal gewechseltes Xylol gebracht und in Kanadabalsam eingeschlossen. In der Wahl der Fixierungsmittel scheint man nicht beschränkt zu sein, jedenfalls hat Verf. bei sehr verschiedenen gut gefärbte histologische Präparate erhalten. Zu vermeiden sind die Osmiumgemische. Man kann mit der Vital-Scharlach VIII-Färbung auch eine vorhergehende Hämatoxylinfärbung verbinden, wodurch die Kerne in den Zellen schärfer hervortreten. — Die klare und dabei leichte Darstellung der Zellen und ihrer Fortsätze auch an Paraffinschnitten ist besonders vorteilhaft für das vergleichende Studium des Zentralnervensystemes der Wirbeltiere. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Legendre, R., Bâtonnets intranucléaires des cellules nerveuses (Bibliogr. anat. t. **22**, 1912, p. 234—239 m. 1 Fig. im Text).

Bei normalen Hunden hat Verf. diese Stäbchenbildungen in den Nervenzellen der Gehirnrinde niemals beobachtet, wohl aber bei Hunden, welche übermäßig lange wach gehalten worden waren oder in die Gehirnventrikel Flüssigkeiten eingespritzt erhalten hatten von anderen schlaflos gehaltenen Hunden. Bei solchen Tieren fanden sich die Stäbchen fast in jeder Zelle. Fixierung in Alkohol. Bei der Färbung mit Eosin und Methylenblau sind die Stäbchen stark blau gefärbt und erscheinen homogen. Nach der Färbung mit Safranin und Lichtgrün sind sie rot gefärbt. Nach Färbung mit Eisenhämatoxylin sind die Stäbchen unsichtbar, nach solcher mit Glychämalaun erscheinen sie als Reihen von gefärbten Körnchen. Da der Anblick dieser Bildungen so verschieden ist, vermag Verf. nicht zu sagen, ob die Körnchenreihen identisch sind mit den Stäbchen. Die Einspritzung der oben erwähnten Flüssigkeiten in die Gehirnventrikel wirkt schon nach 2 Stunden. Die Stäbchen müssen sich also sehr schnell bilden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Helly, K., Weitere Studien über den Fettstoffwechsel der Leberzellen. II. Fettgehalt und Fettphanerose (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **60**, 1914, H. 1, p. 1—21 m. 1 Fig. im Text).

In Formol fixierte Leberstückchen wurden mit dem Gefriermikrotom geschnitten und die Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin, Scharlach R-Hämatoxylin und Nilblausulfat gefärbt. Die quantitative Bestimmung erfolgte aus dem frisch getrockneten und fein pulverisierten Gewebe nach der Rosenfeldschen Alkohol-Chloroformmethode. Zwar sind gegen diese Methode Einwände erhoben worden, wie gegen alle Extraktionsmethoden, so insbesondere von Kumagawa und Suto, und es mag auch ohne weiteres zugestanden werden, daß namentlich die von dem letzteren angewendete Methode der Kombination von Verseifung mit Ausätherung im Durchschnitte genauere Werte ergeben mag. Auf der anderen Seite sind jedoch andere Fehlerquellen bei ihrer Unvermeidlichkeit schon wirkungsvoll genug, um lediglich das Aufstellen von Annäherungs- und Vergleichswerten zu gestatten. Unter diesem Gesichtspunkt ist aber die Rosenfeldsche Methode wohl unbedenklich anwendbar, wobei sie den Vorzug großer Bequemlichkeit hat. Tatsächlich konnten auch auf diesem Wege gewisse Eigentümlichkeiten im Verhalten des Leberfettes gefunden werden, die kaum Folgen fehlerhafter Untersuchungsmethodik sein können.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Sternberg, H., Die Nebenniere bei physiologischer (Schwangerschaft-) und artifizieller Hypercholesterinämie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **60**, 1914, H. 1, p. 91—123 m. 1 Tfl. u. 2 Figg. im Text).

Die Untersuchungen erstrecken sich nur auf tierisches Material, Meerschweinchen und Kaninchen. Bei den ersteren konnte eine vollkommene Serie gravider Tiere in allen Stadien der Schwangerschaft und Laktation zusammengestellt werden. Bei den Kaninchen gelang dies nicht so gut. Die Tiere wurden immer nach vollzogener Deckung isoliert, durch Nackenschlag getötet, dann Bestimmung des Gesamtgewichtes und des Gewichtes der beiden Nebennieren. Diese wurden in MÜLLERscher Flüssigkeit fixiert; ein Teil wurde nach 12 bis 24 Stunden zu Gefrierschnitten verarbeitet, der Rest wurde teils, zur Einbettung in Paraffin, gleich in steigenden Alkohol gebracht, teils erst nach zweitägiger Chromierung in MÜLLERscher Flüssigkeit. Die Gefrierschnitte wurden sowohl ungefärbt eingeschlossen, als auch mit Sudan-Hämatoxylin und Nilblau gefärbt. Die Paraffinschnitte färbte Verf. mit Hämatoxylin-Eosin, Hämatoxylin-VAN GIESON, nach GIEMSA und mit Methylgrünpyronin, die chromierten Schnitte mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und mit der ALTMANNschen Granulafärbung. Besonderes Gewicht legte Verf. bei seinen Untersuchungen auf den Gehalt der Nebennierenrinde an isotropem und anisotropem Lipoid. Es wurden dabei nur drei Schichten der Rinde nach der alten ARNOLDschen Einteilung unterschieden, eine besondere „Spongiosa" wurde — französische Autoren haben das neuerdings getan — nicht berücksichtigt. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Matsui, Y., Über die Gitterfasern der Milz unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Milzzirkulation (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 60, 1915, H. 2, p. 271—320 m. 15 Figg. im Text).

Die Gewebsstücke wurden entweder von der frisch angelegten Schnittfläche der Milz weggeschnitten und sofort in 10prozentige Formollösung gelegt, oder es wurden von den zunächst als Ganzes in 10prozentiger Formollösung fixierten Organen beliebige Stellen untersucht. Ein Teil des Materiales war nach Formolfixierung in Alkohol nachgehärtet worden, in einigen Fällen war das Material sogar in KAISERLINGscher Flüssigkeit aufbewahrt worden. Solches Material diente nur zur Kontrolle. In bezug auf die Technik richtete sich Verf. hauptsächlich nach den Angaben von MARESCH. Da diese Methode aber sehr kompliziert ist und leicht mißlingen kann, so hat Verf. sie nach seinen reichen Erfahrungen etwas modifiziert, und zwar mit befriedigendem Erfolge. Die beste Fixierungsflüssigkeit ist die 10prozentige Formollösung. Die MÜLLERsche und ZENKERsche Lösung sind absolut nicht brauchbar. Die Alkoholfixierung ist mit der Formolfixierung kaum zu vergleichen. Bei etwas längerem Verweilen der Stücke in der Formollösung ist aber die Färbbarkeit der Gitterfasern, besonders der feineren, bedeutend herabgesetzt. Wenn man dagegen

die Gewebsstücke zuerst 1 bis 2 Wochen lang in Formol legt und nach Auswaschen in Wasser in Alkohol nachhärtet, so bleibt die Färbekraft der Fasern ziemlich lange, sogar jahrelang, ganz gut erhalten. Ebenso wichtig ist es, daß die Stücke nicht zu kurze Zeit in der Formollösung verbleiben, da sonst die Fasern nicht gut imprägniert werden: sie erscheinen dann körnig und die Kerne der Zellen sind nicht färbbar. Verf. hat daher seine Schnitte hauptsächlich von Stücken hergestellt, welche 4 bis 5 Tage lang in 10prozentiger Formollösung geweilt hatten. Snessarew hat das Einlegen der Stücke nach der Formolfixierung in Eisenammoniumsulfatlösung empfohlen. Nach Verf. ist das nicht nötig. Nach gründlichem Auswaschen in fließendem Wasser werden die Stücke mit dem Gefriermikrotome in Schnitte zerlegt. Das Auswaschen soll nicht länger als 24 Stunden dauern, da die Versilberungsfähigkeit der Fasern dadurch stark beeinträchtigt wird und die Fasern körnig erscheinen können. Die Schnitte brauchen nicht sehr dünn zu sein; um die geschlängelten Fasern zu untersuchen, sind Schnitte von 10 bis 15 μ schon brauchbar. Dann kommen die Schnitte in 2prozentige Lösung von Silbernitrat. Neuber zieht die 1prozentige Lösung vor, nach Verf. bekommt man aber auch in 2- bis 3prozentiger Lösung keine Niederschläge, welche Neuber fürchtete. Nach Verf. ist die Bildung dieser Niederschläge weniger von der Konzentration der Lösung als von anderen Faktoren, z. B. der Zeitdauer der Formolfixierung, abhängig. Er verwandte deshalb auch stets 2prozentige Lösungen. In diese legte er die Stücke 12 bis 24 Stunden lang, oder noch besser etwas länger, denn nach 5 bis 6 Tagen entsteht noch kein Farbniederschlag, bei kürzerem Einlegen dagegen wird die Färbung mangelhaft. In der Regel legt Verf. die Schnitte etwa 24 Stunden lang gegen Licht geschützt in die Lösung. Alsdann bringt man gewöhnlich die Schnitte für 2 bis 10 Minuten in ammoniakalische Silbernitratlösung, die in folgender Weise hergestellt wird: zu 20 cc einer 2prozentigen Lösung von Silbernitrat werden 3 Tropfen einer 40prozentigen Kalilauge zugesetzt, die dabei entstehenden Niederschläge werden durch Ammoniak aufgelöst. Verf. hält die 40prozentige Kalilauge nicht für zweckmäßig und benutzt deshalb 10prozentige Kalilauge in entsprechend größerer Tropfenzahl, nämlich 6 Tropfen auf 10 cc der 2prozentigen Silbernitratlösung. Dabei vermeidet er das Zusetzen überschüssigen Ammoniaks, indem er von letzterem in die Lösung unter beständigem Umrühren mit dem Glasstabe nur soviel einträufelt, bis eben alle Niederschläge sich lösen. Ein Überschuß an Ammoniak kann auf die Silberimprägnation der Schnitte schädigend einwirken. Ein Zusatz von weniger als 15 Tropfen Ammoniak ist völlig genügend. Die Imprägnation dauert gewöhnlich 2 bis 3 Minuten. Aus Versehen hatte Verf. einmal statt der Kalilauge Natronlauge verwendet, der Erfolg war aber ebenso gut. Nach kurzem Auswaschen in Wasser überträgt man die Schnitte in Formol und redu-

ziert. Zum Abwaschen genügen schon 10 bis 15 Sekunden. Längeres Abwaschen schadet. NEUBER hat eine stark verdünnte Lösung vorgezogen, um die Reaktion ganz allmählich hervortreten zu lassen. Verf. hat das richtig gefunden, da aber die Lösung in starker Verdünnung nicht immer geeignet ist, die feineren Fasern deutlich zu machen, so benutzte er immer eine 1- bis 2prozentige Formollösung. Wenn als Zeichen der erfolgten Reduktion kleine Wolken von den schiefergrauen bis schieferbraunen Schnitten emporstiegen, was gewöhnlich in 1 bis 2 Minuten geschehen ist, wurden die Schnitte in 10 cc destillierten Wassers übertragen, dem 2 bis 3 Tropfen von einer Mischung aus gleichen Teilen 1prozentiger Goldchloridlösung und Eisessig zugesetzt sind. Dauer der Einwirkung 10 Minuten. Um das ungenügend reduzierte Silber zu entfernen, bringt man die Schnitte für $^1/_2$ Minute in 5prozentige Lösung von Natriumthiosulfat. Nach sorgfältigem Auswaschen in destilliertem Wasser Einschluß in Glyzeringelatine. Auch in Balsam erhält man gute Präparate, wenn man sie schnell durch absoluten Alkohol zieht. Kurze Zusammenfassung der Methode: 1) Fixierung frischen Materiales in 10prozentiger Formollösung 4 bis 5 Tage lang. Gründliches Auswaschen in fließendem Wasser, Gefrierschnitte. 2) Die Schnitte verbleiben in 2prozentiger Lösung von Silbernitrat im Dunkeln etwa 24 Stunden. 3) Übertragen in ammoniakalische Silbernitratlösung für mehrere Minuten. 4) Nach schnellem Durchziehen in destilliertem Wasser bringt man die Schnitte für einige Minuten in eine 1- bis 2prozentige Formollösung. 5) Belassen der Schnitte für 10 Minuten in 10 cc destillierten Wassers mit 2 bis 3 Tropfen einer Mischung von gleichen Teilen 1prozentiger Goldchloridlösung und Eisessig. 6) Übertragen in die Fixiernatronlösung für $^1/_2$ Minute. 7) Gründliches Auswaschen, Einschluß in Glyzeringelatine oder Entwässern in absolutem Alkohol, Karbolxylol, Einschluß in Balsam. Alle diese einzelnen Handlungen müssen mit peinlicher Sauberkeit ausgeführt werden. Zur Behandlung der Schnitte ist eine saubere Glasnadel geeignet. Für jede Lösung ist ein eigenes Glasgefäß und als Lösungsflüssigkeit destilliertes Wasser nötig. Es ist ratsam, nicht viele Schnitte zu gleicher Zeit zu färben. Die Gitterfasern werden schwarz und die kollagenen Fasern braun. Die Präparate, in denen die Gitterfasern nicht scharf hervortreten oder in körnige schwarze Massen umgewandelt worden sind, sind unbrauchbar. Daß kollagene Fasern statt braun schwarz gefärbt werden oder Gitterfasern körnig erscheinen, wird dadurch bedingt, daß entweder das Formol auf die Gewebsstücke nicht lange genug eingewirkt hat, oder daß die Lösung nicht genügend konzentriert war, oder aber daß die Stücke zu lange ausgewaschen wurden. Um diese Übelstände zu vermeiden, werden die Gefrierschnitte für 1 bis 2 Stunden wieder in die 10prozentige Formollösung zurückgebracht und nach dem Auswaschen in destilliertem Wasser wie gewöhnlich in der Silbernitratlösung gefärbt. Die Schnitte der zuerst in Alkohol fixierten

Stücke können auf diese Weise färbbar gemacht werden, oder man läßt die Gewebsblöcke 1 Tag in der Formollösung. Sind dagegen die Stücke in der konzentrierten Formollösung oder längere Zeit in der gewöhnlichen Formollösung verblieben und werden sie dann nicht genügend ausgewaschen, so wird das Zellprotoplasma schwarz gefärbt. Jedenfalls ist bei dieser Methode die Behandlung mittels des Formols die wichtigste. Wenn die Lösung dünn ist, läßt man die Stücke länger in der Lösung oder umgekehrt. Paraffinschnitte bieten wegen der Schrumpfung ein ganz anderes Bild dar als die Gefrierschnitte. Wie Maresch schon angegeben hat, läßt man die Schnitte zuerst in der Silbernitratlösung schwimmen, nach der Färbung werden sie dann auf Objektträger geklebt und von Paraffin befreit. Die Schnitte sind 3 bis 5 μ dick. Zelloïdinschnitte kann man auch verwenden, wenn das Zelloïdin mit Äther-Alkohol gelöst wird. Die Bilder sind aber nicht so schön wie bei Gefrierschnitten. — Timofejew hat eine neue Modifikation der Methylenblaufärbung empfohlen, um die Gitterfasern darzustellen. Verf. hat diese Methode aber nicht benutzt, einmal weil bei ihr stets frisches Material nötig ist, dann weil eine Verschiebung der Fasern leicht stattfinden kann und weil endlich diese Methode keine besseren Bilder ergibt als die von Bielschowsky. — Eine neue Modifikation der Methode von Mallory hat Löwenstein zur Darstellung der feineren Bindegewebsfasern empfohlen. Verf. hat seit langer Zeit unabhängig von Löwenstein eine etwas abweichende Modifikation der Malloryschen Methode benutzt, nach der man ebenso schöne Bilder bekommt wie Löwenstein. Methode: Fixierung des Stückes in Zenkerscher Flüssigkeit. Paraffinschnitte. Um zunächst die Kerne zu färben, werden die Schnitte in Lithionkarmin gefärbt (statt in Fuchsin) und in Salzsäurealkohol differenziert. Dann werden die Schnitte in Wasser ausgewaschen, für 1 bis 2 Minuten in 1prozentige Lösung von Phosphormolybdänsäure übertragen und dann wieder in Wasser ausgewaschen. Schließlich kommen die Schnitte für 1 bis 2 Minuten in die Anilinblauorangelösung von Mallory. Nach Differenzierung in Alkohol Einschluß in Balsam. Da nach dieser Methode außer den Gitterfasern auch Zellen gefärbt werden können, hat Verf. sie benutzt. — Außerdem wurden Schnitte der Milz in Hämatoxylin-Eosin, Weigerts Eisenhämatoxylin und van Gieson, Weigerts Elastinfärbung, in einer Verbindung von Weigerts Elastinfärbung und van Gieson usw. gefärbt.

Schiefferdecker (Bonn).

Möllendorff, W. v., Die Dispersität der Farbstoffe, ihre Beziehungen zu Ausscheidung und Speicherung in der Niere. Ein Beitrag zur Histophysiologie der Niere (Anat. Hefte, Abt. 1, Bd. **53**, 1915, p. 81—323 m. 11 Figg. u. 4 Tfln.).

Die Untersuchungen wurden ausschließlich an weißen Mäusen angestellt, die während der Versuchszeit zumeist mit Hafer und etwas Wasser gefüttert wurden. Zur Bestimmung der Ausscheidungsverhältnisse konnten, da bei der Kleinheit der Versuchstiere eine Bestimmung der Urinmenge aussichtslos erschien, nur die Konzentrationswerte des Urins in bezug auf den eingespritzten Farbstoff beobachtet werden, und zwar wurde die Farbstoffkonzentration kolorimetrisch bestimmt. Verf. stellte sich zu diesem Zweck von der zur Injektion dienenden Farbstofflösung eine Konzentrationsskala her, indem er entsprechend verdünnte Lösungen auf Filtrierpapier auftropfte. Wurde nun in verschiedenen Zeitabständen der Urin der Versuchstiere gleichfalls auf Filtrierpapier aufgetropft, so konnte sehr gut annähernd die Urinkonzentration in bezug auf den Farbstoff bestimmt werden. Auf diese Weise wurde im Anfang der Versuche aller 10 Minuten die Konzentration beobachtet, was meistens sehr gut gelingt, da jedesmal nur ein Tropfen Urin erforderlich ist. Die so gewonnenen Konzentrationswerte wurden für jedes Tier in einer Kurve vereinigt, in der die Ordinate die Zeiten, die Abszisse die Konzentrationswerte anzeigt. Die Konzentrationswerte beziehen sich auf die eingespritzte Lösung, so daß $^1/_1$ der Originalkonzentration, $^1/_2$ der halben Konzentration usw. entspricht. Von Farbstoffen kam in erster Linie das Trypanblau (Tolidinblau) zur Verwendung, außerdem aber noch Pyrrholblau, Bayrischblau, Nigrosin, Wasserblau, Lithionkarmin, indigoschwefelsaures Natron, Natronkarmin, Lichtgrün SF, Trypanrot, Diamingrün B, Platinschwarz B, Indulin, Patentblau V, Kongobraun, Azoblau, Alkaliblau 3 B, Platinschwarz.

Der Farbstoff wurde stets subkutan angewandt, um die Nierenzellen nicht plötzlich mit größeren Mengen des Fremdkörpers zu beladen. Allerdings wurde dadurch die Beurteilung einer anderen wichtigen Größe erschwert, nämlich der Farbstoffkonzentration im Blute. Eine angenäherte Bestimmung derselben gestattet aber das Schnittbild.

Getötet wurden die Versuchstiere durch Chloroform. Zur Fixierung bewährte sich aufs beste, und zwar nicht nur für Trypanblau, sondern auch für die meisten anderen angewandten Farbstoffe, das von Goldmann zu diesem Zwecke empfohlene Formalin, das in einer 10prozentigen Lösung (1 Teil käufliches Formol, 3 Teile destilliertes Wasser) verwandt wurde. Es empfiehlt sich die Versuchstiere nach breiter Eröffnung des Abdomens und des Thorax für 48 Stunden oder länger in toto einzulegen.

Nachdem die hervorragende Verwendbarkeit der Isolationsmethode für die in Frage stehenden Zwecke erkannt war, wurde regelmäßig vor der Fixierung eine Niere dem Tiere entnommen und zur Hälfte in konzentrierte Salzsäure vom spezifischen Gewichte 1·24 gelegt. Trypanblau wird nur ganz wenig von der Salzsäure ausgezogen, und es konnten so nach 2- bis $2^1/_2$stündiger Einwirkung der Säure Präparate erhalten werden, die in bequemster Weise über die Anordnung

des Farbstoffes in den Nierenkanälchen Aufschluß gaben. Mit einiger Übung gelingt es nicht allzu schwer, unter vielen Bruchstücken von Harnkanälchen auch ganze Tubuli contorti vom Glomerulus bis an den Übergang in die HENLEsche Schleife zu erhalten. Die Ausdehnung der Färbung wurde natürlich in einer größeren Anzahl von Versuchen gemessen, so daß brauchbare Vergleiche möglich waren. Von den anderen untersuchten Farbstoffen eigneten sich noch Pyrrholblau, Bayrischblau und Trypanrot zur Untersuchung mittels der Isolationsmethode. Selbstverständlich wurde bei den Isolationsversuchen stets auch auf einen etwaigen Farbstoffgehalt anderer Teile des Nierensystems geachtet. In einer Anzahl von Versuchen wurde insbesondere Wert gelegt auf die Bestimmung des Verhältnisses vom gefärbten Teil des gewundenen Kanälchens zu dessen Gesamtlänge und dieses Verhältnis zu Prozentzahlen umgerechnet. Die Notwendigkeit dieser Umrechnung ergab sich aus der Tatsache, daß die gewundenen Kanälchen sehr verschieden lang sind. Da die Isolationspräparate nach längerer oder kürzerer Zeit abblassen, wurden von besonders instruktiven Präparaten Autochromphotographien hergestellt, wobei die Aufnahmen bei Gaslicht unter Verwendung eines v. HÜGELschen (soll wohl heißen HÜBLschen) Farbfilters gemacht wurden.

Zur Herstellung der für die Untersuchung notwendigen Schnitte des Formolmaterials diente ausschließlich die Gefriermethode, mit der es sehr wohl gelingt, Schnitte von 7·5 μ zu erhalten. Dünnere Schnitte sind für die in Frage kommenden Untersuchungen keinesfalls erforderlich. Paraffineinbettung, auch wenn sie noch so vorsichtig angewandt wird, gibt nach Formolfixation immer ein stark verändertes Bild des Gewebes. Die Gefrierschnitte wurden mit Alaunkarmin nachgefärbt und durch Alkohol und Karbolxylol in Kanadabalsam gebracht. Solche Präparate lassen dann erkennen, daß unter diesen Umständen die Formolfixation ausgezeichnete Resultate gibt. So ist z. B. die Stäbchenstruktur sehr deutlich wahrnehmbar und auch der Bürstensaum ist oft gut erhalten.

Zum Studium des Zellgefüges und etwaiger Veränderungen desselben wurde stets ein Teil einer Niere nach der relativ bequemen und leidlich sicheren ALTMANNschen Granulamethode fixiert. Diese gibt in der Mehrzahl der Fälle bei richtiger Ausführung ausgezeichnete Resultate, und man lernt sehr bald Fixationsfehler, wie sie besonders bei zu großen Organstücken in der Mitte der Blöcke vorkommen, als solche erkennen. Zur Einbettung ist hier die JORDANsche Zelloïdin-Paraffinmethode zu empfehlen. Kleine Organstücke brauchen in jeder der vier Zelloïdinlösungen nur 4 bis 5 Stunden zu verweilen. Neben der größtmöglichen Schonung der histologischen Struktur hat man hierbei den Vorteil, daß die Schnitte, mit Eiweiß und Wasser aufgeklebt, bei der Färbung und weiteren Behandlung sehr gut haften bleiben.

Nachdem Verf. im Laufe der Untersuchungen zu der Vorstellung gekommen war, daß die Diffusibilität, die für das Eindringen von

Farbstoffen in die Nierenzellen von Höber und seinen Schülern als wichtig erkannt war, für die Ausscheidbarkeit sowohl wie für die Effekte der eintretenden Färbung in den Nierenzellen von Bedeutung sein könne, wurden noch alle verwandten Farbstoffe dem Dialysierversuch unterworfen, wozu die von Abderhalden geprüften Dialysierschläuche der Firma A. Schoeps in Halle dienten. Es empfiehlt sich wegen der nicht immer gleichmäßigen Resultate, die Versuche mehrfach anzusetzen. Bei jedem Versuche wurde auf die Zeit geachtet, nach deren Verlauf eine Färbung zuerst erkennbar war. Um den sich im Verlaufe von 6 bis 8 Tagen einstellenden wichtigen Endzustand zu bestimmen, wurde das Verhältnis von Innenflüssigkeit (Farbstofflösung) zu Außenflüssigkeit (destilliertes Wasser) regelmäßig 1:50 genommen und die Außenflüssigkeit kolorimetrisch untersucht. Auf diese Weise konnten die Farbstoffe in eine fortlaufende Reihe verschiedener Diffusibilität geordnet werden. Die Geschwindigkeit, mit der ein Farbstoff durch den Schlauch tritt, schien dem späteren Endzustand insofern zu entsprechen, als stark diffusible Farbstoffe sowohl schneller, als auch in größerer Menge durch den Schlauch passieren als weniger diffusible. In bezug auf die Ausscheidbarkeit der verschiedenen Farbstoffe konnten auf diese Weise sehr gute Vergleiche erzielt werden. Will man aber auch den Effekt der eingetretenen Farbstoffablagerung in der Niere bei den verschiedenen Farbstoffen einem Vergleich unterziehen, so ergeben sich fast unüberwindliche Schwierigkeiten. Der vom Verf. eingeschlagene Weg, Lösungen von möglichst gleicher kolorimetrischer Konzentration für die Versuche herzustellen — so entsprach z. B. eine 1prozentige Trypanblaulösung einer 2prozentigen Lösung von Bayrischblau —, ergab keine genügend befriedigenden Resultate. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Debeyre, A., Sur la diversité de forme des chondriosomes dans les glandes salivaires (Bibliogr. anat. t. **22**, 1912, p. 240—251 m. 3 Figg. im Text).

Ehrlich hat seinerzeit zuerst das Janusgrün zur vitalen Färbung empfohlen und sein Schüler Michaelis (Arch. f. mikr. Anat. Bd. **55**, 1900, p. 558—575 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **18**, 1901, p. 431—433) hat es 1900 zur Färbung der Zellkörnchen angewendet. Laguesse (Revue annuelle d'Anatomie, in Revue gén. d. Sc. pures et appliq. 1901, p. 1025) benutzte in demselben Jahre den Farbstoff, um in den Pankreaszellen die „Ergastidien" oder „Würmchen" oder differenzierten Fäden in dem Protoplasma nachzuweisen. Im Jahre 1912 hat Laguesse (Bibliogr. anat. t. **21**, 1911, fasc. 5, ferner: Communicat. à la Soc. de Biol. 1912, ferner: Laguesse et Debeyre, ebenda) Untersuchungen darüber angestellt, ob das Janusgrün nicht ein sehr spezifisches Reagens für das Chondriom sei, und hat dabei die ganz besondere Elektivität des Janusgrüns für die Chondriosomen im allgemeinen festgestellt. Verf. hat nun die

Unterkieferdrüse das Kaninchens zum Teile an frischen Scherenschnitten ungefärbt untersucht, zum Teile mit Janusgrün gefärbt. Die mit kleinen Scheren hergestellten, sehr dünnen, der ganz frischen Drüse entnommenen Schnitte wurden so wenig wie möglich gedrückt. Auf dem Objektträger wurden sie mit Nadeln ein wenig zerzupft in dem Humor aqueus aus dem Auge desselben Kaninchens. Das Janusgrün wurde im Verhältnisse von 1 : 30000 in einer Kochsalzlösung von 9 pro Mille nach der Methode von Michaelis gelöst. In diese Flüssigkeit kamen sehr kleine und dünne Gewebsstückchen, die möglichst an der Oberfläche in Berührung mit der Luft gehalten wurden. Nach 30 bis 40 Minuten sieht man nur noch die gefärbten Mitochondrien. In den Zellen der peripheren Acini findet man an der Basis eine verschieden große Menge von kleinen dunkelblaugrünen Körnchen von verschiedener Größe. Die wirklichen „Sekretkörner“ bleiben im Gegensatze dazu ungefärbt, sind schwach lichtbrechend, von mittlerer Größe, mitunter verhältnismäßig groß, und zeigen auf ihrer Oberfläche fast sämtlich kleine, deutlich grün gefärbte Verdickungen. Verf. gibt dann noch weitere Mitteilungen über verschiedene Bilder nach verschiedenartiger Behandlung. Es wird dieserhalb auf das Original verwiesen. — Verwendet man zusammen Janusgrün und Neutralrot, so zeigen sich die Sekretkörner rot gefärbt und tragen auf ihrer Oberfläche kleine grüne Kalotten oder Vorsprünge. Verf. empfiehlt diese Doppelfärbung angelegentlich. Er bemerkt aber dazu, daß das Janusgrün dem Neutralrot weit überlegen ist, da es elektiv ist und nur die Mitochondrien färbt, während das Neutralrot, für sich allein angewendet, gleichzeitig die Sekretkörner und die Mitochondrien färbt. — Kleine Stückchen des Gewebes wurden ferner fixiert in der Flüssigkeit J von Laguesse (Chromsäure - Osmiumsäure - Essigsäuremischung im Verhältnisse von 8, 4, 1 Tropfen), ferner in der Flüssigkeit von Meves, in der von Benda, von Zenker und von Tellyesniczky, sie verblieben in diesen Flüssigkeiten etwa 2 Tage, um eine gute Chromierung zu erreichen. Die Schnitte hatten eine Dicke von 3, 2 und 1 μ. Nach einer 24stündigen Beizung in dem Eisenalaunbade kamen die Schnitte in eine Hämatoxylinlösung (1 cc der Stammlösung [Hämatoxylin 1, absoluter Alkohol 10] auf 10 cc destillierten Wassers) für 2 oder 3 Tage, mitunter auch länger. Die Differenzierung in Eisenalaunlösung, die unter dem Mikroskope kontrolliert wird, wird abgebrochen in dem Augenblicke, da die Mitochondrien, die zwischen den Sekretkörnern liegen oder an ihrer Peripherie, noch allein gefärbt erscheinen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Ballowitz, E., Zur Kenntnis der Spermien des Herings (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, p. 177—184 m. 3 Figg. u. 1 Tfl.).

Das Sperma wurde aus den Fischen wenige Stunden nach dem Fange vorsichtig ausgedrückt und ohne jeden weiteren Zusatz sofort in kleine Gläser mit der Fixierungsflüssigkeit gebracht und umgeschüttelt.

Als Fixierungsflüssigkeit diente 1prozentige Osmiumsäure und 4prozentige Formollösung. Da das herausgedrückte Sperma der im Mai gefangenen Fische noch etwas dick war, wurde nach der gleichen Methode auch noch Material zu einer etwas späteren Jahreszeit konserviert. Die Untersuchungen wurden teils an ungefärbten Präparaten, teils an solchen, die mit Gentianaviolett tingiert waren, gemacht.

E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).

C. Mikroorganismen.

Perlmann, A., Farbmethode der Gruber-Widal-Reaktion (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 13, p. 435).

Im Kriege häufte sich das Untersuchungsmaterial auf Typhus, Paratyphus und Ruhr so sehr, daß die Untersuchungen auch abends bei künstlicher Beleuchtung ausgeführt werden mußten. Da die Ablesung der Resultate zeitraubend und ermüdend für das Auge war, versuchte Verfasserin die geimpften Röhrchen nach dem Zentrifugieren oder, bei Benutzung des Brutofens, kurz nach Entfernung der Röhrchen aus demselben, also vor Ablesung des Resultates, zu färben. Als Vergleichsfärbungen dienten: Eosin, Fluoreszin, Anilinblau und Methylorange. Verfasserin entschied sich für das Methylorange in 0·5prozentiger alkoholischer Lösung, wie sie zur Bestimmung der Salzsäure des Magensaftes als Töpfers Reagens bekannt ist. Schon der Zusatz von 2 bis 3 kleinen Tropfen (aus einer Kapillarpipette mit Gummiball) genügte, um die Flüssigkeit orangegelb zu färben. Eine Farbe, die das Auge auch nach vielen Versuchen nicht ermüdet und eine genaue Unterscheidung zwischen schwach positiven und negativen Fällen gestattet. Die Färbung besitzt den Vorzug vor dem Ablesen der ungefärbten Flüssigkeit, deren weiße, milchige Trübung das Auge bald ermüdet.

Schiefferdecker (Bonn).

Bertarelli, E., Zellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, 1915, H. 6, p. 463—464).

An Stelle des Kollodiums nimmt Verf. zur Herstellung der in bakteriologischen Laboratorien üblichen Säckchen Zellit oder Zelluloseazetat, das z. B. von Bayer-Elberfeld in den Handel gebracht wird.

Als Lösungsmittel werden empfohlen Mischungen von

Alkohol	20 Gew.-Teile
Essigsäure	80 „ „

oder von

Azeton	20 Teile
rektif. Alkohol	13 „
Essigsäure	49 „

Verf. fand für seine Zwecke beide Lösungsmittel gut geeignet und arbeitete mit einer 12- bis 15prozentigen Lösung.

Reagensgläser von geeigneten Maßen werden auf die Gleichmäßigkeit ihrer Form geprüft und bei befriedigendem Befund in die Zellitlösung getaucht. Die klebrige Lösung läßt man abtropfen und stürzt das Reagensglas nötigenfalls für einen Augenblick, damit die Lösung sich an den Wänden gut verteilt. Man bringt hiernach die Zellitlösung zur Gerinnung, indem man das Röhrchen in Wasser oder eine Lösung von schwefelsaurem Ammonium taucht. Innerhalb weniger Minuten erstarrt das Zellit und wird opalisierend. Hiernach läßt sich das Säckchen ohne Schwierigkeiten abziehen. Es wird in Wasser gründlich gewaschen, damit alle Essigsäure- oder Azetonreste beseitigt werden, dann wird es auf ein scharf abschneidendes Glasröhrchen montiert und im Autoklaven sterilisiert.

Küster (*Bonn*).

D. Botanisches.

Guilliermond, A., Recherches sur le chondriome chez les champignons et les algues (Rev. gén. de bot. t. **27**, 1915, no. 319, p. 193).

Verf. hat folgende Methoden benutzt: Methode IV von Regaud, die Methoden Bendas und Altmanns und eine Modifikation des Mevesschen Verfahrens. Letztere wird folgendermaßen angewandt: achttägige Fixierung mit Flemmingscher Flüssigkeit (ohne Essigsäure), auswaschen in fließendem Wasser während einer Stunde, 24stündige Behandlung mit 2prozentiger Kaliumbichromatlösung, abermals 24 Stunden auswaschen, 24 Stunden behandeln mit einer Mischung von Holzessig und Chromsäure (gleiche Teile), schließlich Färbung nach Heidenhain.

Regauds Methode, bei der man die Objekte längere oder kürzere Zeit zu beizen hat, gibt im allgemeinen gute Resultate. Manchmal freilich versagt sie, so daß man zu dem Mevesschen Verfahren seine Zuflucht nehmen muß. Zuweilen läßt aber auch dieses im Stich. Wenn die Zellen reichlich Fett enthalten, fand es Verf. oft zweckmäßig, die fixierten Objekte mit H_2O_2 zu behandeln.

Eine der beiden Methoden gestattet immer, die Differenzierung des Chondrioms zu erreichen. Bei manchen Objekten erforderten verschiedene Entwicklungsstadien verschiedene Behandlung: die Asci von Pustularia vesiculosa z. B. geben, nach der Methode Regauds behandelt, gute Präparate bis zum Stadium der Mitosen; später, während der Mitosen und bei der Sporogenese, liefert dieselbe Methode nur mittelmäßige Bilder: die Mevessche Methode dagegen gibt gerade während der späteren Entwicklungsphasen gute Präparate.

Sjövalls Methode gab dem Verf. nur schlechte Präparate.

Die Methoden von Altmann und Benda sind so subtil und ihre Resultate so ungleichmäßig, daß Verf. nur in besonderen Fällen zu ihnen gegriffen hat, namentlich dann, wenn die Beziehung der Mitochondrien zu den in den Zellen liegenden Fetten geprüft werden sollte. Altmanns Methode (Fixierung nach Flemming ohne Essigsäure, hiernach Chrombehandlung) und Bendas Verfahren färben die Mitochondrien rot (Altmann) oder violett (Benda), die fetten Bestandteile werden durch die Osmiumsäure geschwärzt. Namentlich bei Behandlung nach dem Altmannschen Verfahren heben sich die dunkelbraunen Fettbestandteile sehr gut von den Mitochondrien ab.

Altmanns und Bendas Methoden geben zuweilen sehr gute Resultate, z. B. bei manchen Algen (Spirogyra, Cosmarium parvulum) oder bei Penicillium glaucum.

Um die Beziehungen der Mitochondrien zu den metachromatischen Körnern klarzulegen, färbte Verf. die Zellen oft nach Regaud und hiernach mit Kresylblau: die metachromatischen Körnchen zeigen sich als rotviolette Einschlüsse in den dunkleren Mitochondrien.

Küster (Bonn).

Kylin, H., Die Entwicklungsgeschichte von Griffithsia corallina [Lightf.] Ag. (Zeitschr. f. Bot. Bd. 8, 1916, H. 2, p. 97—123).

Zum Fixieren diente die schwächere Flemmingsche Lösung (zweistündige Einwirkungsdauer). Untersuchung in Glyzerin oder nach Mikrotomierung und Färbung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin oder Lichtgrün. *Küster (Bonn).*

Gothan, W., Über die Epidermen einiger Neuropteriden des Karbons (Jahrb. d. kgl. preußischen geolog. Landesanstalt für 1914, Bd. 35, 1915, Teil II, Heft 2, p. 373—381 m. 1 Tfl.).

Selbst bei zarten Neuropteridenresten aus dem Karbon vermochte Verf. durch Mazeration noch gute Epidermisstrukturen sichtbar zu machen. Man verwende Material, das durch Aufschlagen und Spalten des Gesteins frisch gewonnen ist. *Küster (Bonn).*

Wisselingh, C. van, Über die Anwendung der in der organischen Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochemischen Untersuchung (Folia microbiologica Jahrg. 3, 1915, H. 3, p. 1—34, m. 1 Tfl.).

Den größten Teil dieser Arbeit nimmt nicht die allgemeine Besprechung des in der Überschrift genannten Themas, sondern eine einzelne Aufgabe ein. Verf. stellt die Ergebnisse der makro-

chemischen Untersuchung des Chitins zusammen und bespricht die sich daraus ergebenden mikrochemischen Reaktionen auf Chitin bzw. Chitosan.

Vor Ausführung aller unten angegebenen Reaktionen verwandelt man das Chitin der Objekte — die günstigsten pflanzlichen sind: Agaricus campestris, Polyporus versicolor, Aspergillus, Plasmodiophora brassicae, Peltigera canina — durch Erhitzen in zugeschmolzenen Glasröhrchen bis auf 160° C in konzentrierter oder 50prozentiger Kalilauge in Chitosan. Die Präparate werden dann zur Erhöhung ihrer Festigkeit mit absolutem Alkohol, hierauf mit destilliertem Wasser gewaschen.

A. Farbreaktionen.

1) Reaktion mit Jod und Säuren. Bei der früher vom Verf. angegebenen Reaktion mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **31**, 1898, p. 657) ist die Reihenfolge der Reagentien gleichgültig. Man kann statt der Schwefelsäure auch andere verdünnte Säuren und Lösungen saurer Salze (Kaliumbisulfat) anwenden; dann ist es aber zweckmäßig, zuerst das Jodjodkalium einwirken zu lassen, da manche verdünnte Säuren (Salzsäure, Essigsäure, Wein-, Zitronen- und Benzoesäure) das Chitosan lösen. Die Färbung des Chitosans ist rotviolett in verschiedenen Tönen; Kaliumbisulfat ruft blauviolette Färbung hervor. — Setzt man nach Ausführung der Reaktion mit Jod und verdünnter Schwefelsäure starke ($66^1/_2$- oder 76prozentige) Schwefelsäure zu, so verschwindet die violette Chitosanreaktion, während die Zellulose sich bläut.

2) Reaktion mit Ferro- bzw. Ferrizyanwasserstoffsäure. Die Chitosanpräparate werden erst mit verdünnter Schwefelsäure, dann mit 1prozentiger Ferrozyankaliumlösung behandelt, mit Wasser ausgwaschen und ausgekocht. Bringt man sie hierauf in die Lösung eines Ferrisalzes (Ammoniumferrisulfat), so entsteht in den ursprünglich chitinhaltigen Teilen ein feiner, gut lokalisierter Niederschlag von Berliner Blau. — Bei gleicher Behandlung der Präparate unter Verwendung von Ferrizyankalium und Ammoniumferrosulfat werden die chitinhaltigen Teile durch Turnbulls Blau angezeigt. — Nach Ausführung dieser Reaktionen ist die unter 1) beschriebene nicht mehr möglich.

3) Pikrinsäure, Pikrolonsäure, Trinitrophenol und Trinitrokresol färben Chitosan (nicht Chitin) in den Präparaten gelb. Behandelt man dann die Präparate nach der unter 1) angegebenen Methode, so tritt Violettfärbung an Stelle des Gelb ein.

4) Phosphormolybdänsäure und Zinnchlorür. Man legt die Präparate in 1prozentige Lösung der Säure, wäscht und kocht sie in destilliertem Wasser gründlich aus und behandelt sie mit sehr verdünnter Zinnchlorürlösung; es tritt Blaufärbung der chitosanhaltigen

Elemente ein. — Statt der genannten Säure ist auch Phosphorwolframsäure verwendbar; doch muß man die Präparate dann lange in der Zinnchlorürlösung erwärmen. — Das Zinnchlorür läßt sich durch andere Reduktionsmittel ersetzen (Ferrosulfat, Wasserstoff in statu nascendi).

5) Reaktion mit 1,2-naphtochinon- 4-sulfosaurem Natrium. Chitosan färbt sich in einer Lösung dieser Verbindung in sehr verdünnter Essigsäure zimtbraun; schwaches Erwärmen beschleunigt die Reaktion. Behandelt man die Präparate nach ihrer Ausführung mit verdünnter Kalilauge oder mit Salmiakgeist, so schlägt die Farbe nach olivgrün um. — Die Reaktion macht die mit Jodjodkalium und Schwefelsäure unmöglich.

Die neuen Reaktionen (2 bis 5) stehen der älteren (1) an Empfindlichkeit nur wenig nach; die Tiefe der von ihnen hervorgerufenen Färbung entspricht dem Chitingehalt der Präparate. — Verf. gibt noch zwei Reaktionen mit Goldchlorid und Tannin an, empfiehlt sie aber nicht.

B. Andere Reaktionen.

1) Lösung mit salpetriger Säure. Legt man Chitosanpräparate in Kaliumnitritlösung, so tritt bei Zusatz verdünnter Schwefelsäure Gasbildung und Lösung des Chitosans ein.

2) Umwandlung durch Schwefelkohlenstoff. Man bringt die Chitosanpräparate aus absolutem Alkohol in Schwefelkohlenstoff und erwärmt sie darin auf dem Wasserbade längere Zeit. Es bildet sich dabei ein unlösliches Reaktionsprodukt, so daß die Präparatstruktur erhalten bleibt. Der neue Körper gibt mit Jodjodkalium + Schwefelsäure eine gelbe bis braune Färbung; er ist unlöslich in verdünnter Essigsäure, verdünnter Salzsäure und in salpetriger Säure.

3) Alkylierung. Die Chitosanpräparate werden aus absolutem Alkohol in Jodmethyl übertragen und lange mit diesem und darauf mit alkoholischer Kalilauge erwärmt. Verfährt man so dreimal, so bildet sich aus dem Chitosan ein unlöslicher Körper, der mit Jod + Säure Orangefärbung ergibt.

4) Azylierung. Behandelt man Chitosanpräparate mit Azethylchlorid, so erhält man ein Produkt, das sich in mancher Beziehung wie Chitin verhält. Es wird bei Erhitzung in Glyzerin bis auf 300° C nicht zersetzt; Behandlung mit Jodjodkalilösung bewirkt Gelb- oder Orangefärbung, die beim Zufügen von verdünnter Schwefelsäure nicht in Violett übergeht. Auch die übrigen Chitosanreaktionen versagen. — Wenn man die Präparate nach der Azylierung mit konzentrierter oder 50prozentiger Kalilauge erwärmt, so entsteht wieder Chitosan, das nach Auswaschen mit absolutem Alkohol alle oben erwähnten Farbreaktionen zuläßt.

Ähnliche Resultate ergibt die Behandlung mit Benzoylchlorid; auch nach dem Benzoylieren gewinnt man durch Erwärmen in konzentrierter Kalilauge wieder Chitosan.

Durch Erwärmen der Chitosanpräparate in Lösungen von Phtalsäure- oder Bernsteinsäureanhydrid in Alkohol, Benzol oder Toluol verwandelt sich das Chitosan ebenfalls in ein Produkt, das keine Chitosanreaktionen mehr gibt. Es unterscheidet sich von den durch Azylierung und Benzoylierung erzeugten Körpern dadurch, daß es in verdünnten Alkalien (verdünnter Kalilauge, Sodalösung) löslich ist.

C. Kontrolle.

Man legt die Chitosanpräparate auf dem Objektträger in einen Tropfen 2prozentiger Essigsäure. Das Chitosan löst sich. Nun fügt man unter dem Deckglase etwas Ferro- bzw. Ferrizyanwasserstoffsäure, Phosphormolybdänsäure, Pikrin- bzw. Pikrolonsäure oder naphthochinonsulfosaures Natrium zu. Diese Reagentien verursachen häutige oder körnige Chitosanniederschläge. Diese unterwirft man nun den erwähnten Reaktionen. —

Alle Reaktionen auf Chitin werden schärfer, wenn man die Präparate zuerst im zugeschmolzenen Glasröhrchen mit Glyzerin bis auf 300° erhitzt und dann erst die Überführung in Chitosan vornimmt.

Hans Schneider (*Bonn*).

Pascher, A., Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz.

Heft 5: Chlorophyceae II. Tetrasporales, Protococcales, einzellige Gattungen unsicherer Stellung; bearbeitet von E. Lemmermann, J. Brunnthaler und A. Pascher. 250 pp.; 402 Abbild. im Text. Jena 1915.

Das reichhaltige Heft bringt auch einige mikrotechnische Angaben. Mit Nachdruck wird auf die Notwendigkeit hingewiesen, stets erst lebendes Material zu untersuchen und danach genaue Zeichnungen anzufertigen. Zur Fixierung der Tetrasporales empfiehlt Lemmermann 2prozentiges Formol, Pfeiffersche Lösung und Alkohol, zur Färbung Safranin, Gentianaviolett, Karbolfuchsin und Eisenhämatoxylin. Brunnthaler wendet auf Protococcales hauptsächlich die Pfeiffersche Methode der Fixierung und Färbung an. Er fixiert aber auch mit $^1/_2$- bis 1prozentiger Chromsäurelösung mit oder ohne Eisessigzusatz; in diesem Falle werden die Objekte gut ausgewaschen und in 10prozentiger Glyzerinlösung oder in Alkohol aufbewahrt.

Hans Schneider (*Bonn*).

Derschau, M. v., Der Austritt ungelöster Substanz aus dem Zellkerne (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 255—277 m. 2 Tfln.).

Nach Ansicht des Verf. haben Fixierung und einseitige Färbung (Eisenhämatoxylin-Verfahren) ohne Zweifel im Laufe der letzten Dezennien am meisten dazu beigetragen, den Glauben an eine vorhandene Kernmembran zu festigen, und den Ausführungen Stauffachers über den Wert unserer Fixier- und Färbemittel für tierische und pflanzliche Zellen ist entschieden beizupflichten, wonach vor allem der Alkohol wegen seiner Neutralität gegenüber den Zellsubstanzen das idealste Fixierungsmittel darstellen dürfte. Auch Essigsäure sowie das bekannte Carnoysche Gemisch sind zum Fixieren mit Vorteil verwendbar. Dagegen schädigen die starken mineralischen Säuren durch Fällung unlöslicher Eiweißverbindungen auf das schwerste das Bild der Zelle. Unnatürliche Verklumpungen der Kernsubstanzen verändern besonders das Bild des Kernrandes und bilden so eine kontinuierliche Schicht, welche in vollkommener Weise eine Kernhülle vortäuscht. Daneben treten stets Schädigungen des Plasmanetzes auf. Für pflanzliche Objekte eignet sich nun wegen seines schnellen gleichmäßigen Durchdringens auch noch der 70prozentige Alkohol. Die Objekte werden genügend gehärtet und schneiden sich besonders gut. Bei schwächerer Konzentrationen liegt jedenfalls die Gefahr vor, daß die Eiweißkörpen gelöst werden können. Neutraler starker Alkohol bewirkt jedenfalls eine ungeänderte Fällung der Eiweißstoffe und bei der Auswahl geeigneter Farbstoffe wird man immer Präparate erhalten, welche genügende Differenzierung der verschiedenen Strukturen zeigen. Die Methylgrün-Fuchsinfärbung (Ehrlich-Biondi) sowie die Kombination von Methylenblau mit Eosin sind für Differenzierungen in der Pflanzenzelle ganz besonders geeignet. Beide Färbemittel lassen immer in schärfster Weise Oxy- und Basichromatin unterscheiden, was man vom Eisenhämatoxylin nicht behaupten kann.

Stoffwanderungen aus dem Kerne sind sehr gut in vivo an künstlich isolierten Pflanzenzellen zu studieren. Verf. benutzte zu diesem Zwecke Eichhornia crassipes, eine Pflanze, deren Mesenchymzellen sich wegen ihrer leichten Isolierung zu Kulturzwecken gut eignen. Diese Zellen sind gewöhnlich nur an 2 bis 3 Punkten miteinander verwachsen und ihre Trennung ist unter dem Simplex leicht ausführbar. Die Kultur wurde auf neutralen Kieselsäureplatten vorgenommen. Als Nährstoffe dienten Rohrzuckerlösung, Knopsche Flüssigkeit, Nährbouillon, 0·2prozentiges Ammonphosphat, 0·2prozentiges Magnesiumsulfat. Auch Mischungen dieser Lösungen miteinander wurden benutzt. Die Beobachtungen erstreckten sich auf 14 Tage, höchstens 3 Wochen, da länger schädigende Bakterieneinwirkung nicht verhindert werden konnte.

E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).

Naumann, E., Mikrotekniska Notiser. I—III. Mit deutschem Resumé (Bot. Notiser 1915, p. 49—60).

Die Montierung von Kollodiumabdrücken fossiler und rezenter Pflanzenteile nimmt Verf. so vor, daß die Kollodiumhäutchen unmittelbar nach der Ablösung vom Objekt auf ein dünnes Lager Xylol-Kanadabalsam aufgetragen werden; die Reliefseite hat nach oben zu liegen und bleibt dauernd unbedeckt. Deckglas ist überflüssig. Die wegen verschiedenartiger Kontraktionen meist unbrauchbare Randpartie des Präparates ist erst nach dem Eintrocknen des Balsams mit einer Schere zu entfernen. Die Zentralpartie bewahrt in vorzüglicher Schärfe das Relief; Präparate dieser Art eignen sich gut zu projektiver Darstellung und mikrophotographischer Aufnahme.

Übersichtsbilder über die Verteilung der Cystolithen in Blättern (Ficus, Fittonia usw.) gewinnt Verf. in der Weise, daß er kleine Partien der Blätter in einem Porzellantiegel verascht. Der Kalkreichtum der Objekte läßt weiße Lamellen zurückbleiben, die man auf eine dünne Schicht Kanadabalsam aufträgt. Sie strecken sich hierbei gut aus und werden für die mikroskopische Untersuchung hinreichend durchsichtig. Ein Deckglas ist im allgemeinen nur dann erforderlich, wenn starke Vergrößerung angewandt werden soll. Die Cystolithen treten in den Präparaten sehr kontrastreich hervor, so daß sich diese auch zu mikrophotographischen Aufnahmen gut eignen.

Phenol (90 Teile in 10 Teilen Wasser) ist als Aufhellungsmittel bei Untersuchung pflanzlicher Objekte sehr wirksam, namentlich wenn es sich um Prüfung der Gewebe auf oxalat- oder kieselführende Idioblasten handelt. Störend wirkt bei Untersuchung der in Phenol liegenden Objekte die Kristallisation des Mediums. Man verhindert sie durch Zusatz von Glyzerin; dieses setzt die aufhellende Kraft des Phenols herab und ermöglicht daher, in besonderen Fällen die Aufhellung nach Belieben zu variieren.

Küster (Bonn).

Naumann, E., Mikrotekniska Notiser. IV. Den absoluta alkoholens umbärlighet (Bot. Notiser 1916, p. 35).

Wo der Krieg Schwierigkeiten gebracht hat, die nötigen Mengen von absolutem Alkohol sich zu verschaffen, kann man sich nach Verf. in vielen Fällen mit 95prozentigem Alkohol in durchaus befriedigender Weise behelfen. Beim Montieren in Xylolkanadabalsam kommt Verf. ohne absoluten Alkohol aus. Die Objekte kommen aus 95prozentigem Alkohols in eine Mischung von gleichen Teilen desselben Alkohols und Karbolxylols (letzteres enthält je 22 g kristallisiertes Phenol auf 100 cc Xylol), dann in reines Karbolxylol. Hiernach Montierung in Xylolkanadabalsam in der üblichen Weise. Bei diesem

Verfahren wird es als ein Vorzug empfunden, daß die starke wasseranziehende Kraft des Karbolxylols fast niemals die sonst häufigen milchigen Trübungen des Balsams usw. aufkommen läßt; auch gestattet sie die Operationen schneller vorzunehmen, als bei dem üblichen Verfahren angeht. — In botanischen Laboratorien sind nach Verf. diese bereits bekannten Tatsachen bisher nicht hinreichend gewürdigt worden. *Küster* (*Bonn*).

Vouk, V., Zur Kenntnis der mikrochemischen Chitinreaktion (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 8, p. 413).

Die Methode Wisselinghs, Chitin in pflanzlichen Zellhäuten nach seiner Umwandlung in Chitosan nachzuweisen, die es in konzentrierter Kalilauge in zugeschmolzenen Röhrchen bei einer Erhitzung auf 160 bis 180° C erfährt, ist zeitraubend und läßt sich nach Verf. durch Erwärmung auf bescheidenere Temperaturgrade ersetzen. Verf. kocht sein Material in einem Becherglas in etwa 100 cc konzentrierter Kalilauge; das Glas bedecke man mit einem Uhrglas. Es genügt, die Objekte 20 bis 30 Minuten lang auf 110° C zu erhitzen, um die Umwandlung des Chitins in Chitosan zu erzielen. *Küster* (*Bonn*).

Kindler, Th., Gametophyt und Fruchtansatz bei Ficaria ranunculoides (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 73—85).

Fixierung der Fruchtknoten mit Eisessig-Alkohol; als Färbemittel bewährte sich besonders Safranin-Lichtgrün nach Sieben.

Küster (*Bonn*).

Tiskernik, A., Die Plasmaverbindungen bei Moosen (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 107—120).

Verf. zählt eine große Zahl von Methoden auf — zum Teil Modifikationen bereits früher beschriebener Verfahren —, welche den Nachweis der Plasmodesmen bei Moosen gestatten. Eine für alle Arten anwendbare Universalmethode befindet sich unter ihnen freilich nicht.

1) Fixieren des Materials in „nicht gesättigter“ Jodtinktur (25 Minuten), Auswaschen oder Abpinseln der Präparate, Quellen in 25prozentiger H_2SO_4 (etwa 6 Stunden — die Zeit ist auszuprobieren), hiernach Färben mit Anilinblau, Säurefuchsin oder Safranin.

2) Fixieren mit gesättigter Jodtinktur (10 bis 15 Stunden). Auswaschen. 5 bis 7 Stunden 25prozentige oder 50prozentige H_2SO_4.

3) Jodjodkaliumlösung (Terletzki und Kohl). 16 bis 20 Stunden Quellen in 25prozentiger H_2SO_4.

4) Jodjodkali und Jodtinktur; 4 bis 6 Stunden Behandlung mit 25prozentiger H_2SO_4.

Das Resultat der Behandlung schwankt innerhalb weiter Grenzen mit der Konzentration der Jodlösung und namentlich der der Schwefelsäure. Nicht nur Moosblätter verschiedener Arten geben verschiedene

Resultate und machen verschiedene Ansprüche an die Methodik, sondern auch Blätter derselben Spezies reagieren verschieden zu verschiedenen Jahreszeiten. Frisches Material verhält sich anders als solches, das erst nach 3 oder 4 Tagen zur Untersuchung kommt. Im April muß man bei Behandlung der Membranen die Quellungsmittel stärker zur Wirkung bringen als im Februar. Die Methoden 1 bis 4 führen sehr oft zu Plasmolyse; die Plasmodesmen reißen und werden mit dem Plasma zurückgezogen.

5) Rhodankaliummethode: 5 Minuten warme Rhodankaliumlösung (Gicklhorn); die Membranen quellen in ihr sehr stark; 5 bis 10 Minuten Jodtinktur oder Joddämpfe. Diese haben den Vorzug, daß bei ihrer Verwendung sich im Präparat nur selten überschüssiges Jod absetzt, was bei Anwendung der anderen Jodmittel kaum zu vermeiden ist; die ausgefallenen Körnchen können leicht Plasmodesmen vortäuschen. — Beobachtung in Jodtinktur oder Jodglyzerin.

6) 5 Minuten warme — nicht heiße — gesättigte Chlorzinklösung; 10 Minuten Jodjodkali und Jodtinktur. Chlorzink wirkt insofern günstig, als nicht nur die Membran, sondern auch das Plasma verquillt. Die Lösung wurde in einer Porzellanschale erwärmt, aber nur so weit, daß man sie mit der Hand noch leicht fassen konnte; hierauf wurden die Objekte in die Lösung geworfen.

7) Ebenso; Färbung mit Anilinblau, Pyoktanin, Methylviolett, Karbolfuchsin.

8) 5 Minuten 1prozentige Osmiumsäure, ebenso lange in warmer 5- bis 10prozentiger H_2SO_4; 10 Minuten Jodjodkali und Jodtinktur (oder nur Jodtinktur), 5 Minuten Karbolfuchsin, Methylviolett. Untersuchung in Jodglyzerin oder schwachem Jodwasser.

9) 10 Minuten 1prozentige Osmiumsäure; 5 Minuten warme, gesättigte Chlorzinklösung, hiernach Jodbehandlung und Färbung wie in der vorigen Methode.

10) Schwache Jodjodkalilösung nach Kienitz-Gerloff (1 : 1 : 200). Auswaschen. Behandlung mit 25-, 30- oder 50prozentiger H_2SO_4. Hiernach Färben mit „Gemisch von 25prozentiger H_2SO_4 und gleichen Teilen Methylviolett". Auswaschen. In Glyzerin untersuchen.

11) 5 bis 10 Minuten Behandlung mit 1- oder 3prozentiger Osmiumsäure (A. Meyer). Auswaschen. 5 Minuten Jodjodkali. 1 bis 30 Stunden in 25prozentiger H_2SO_4, zu welcher pulverisiertes Jod gegeben worden ist.

12) 5 bis 15 Minuten gesättigte Jodtinktur oder Jodjodkali (1 : 1 : 200). Auswaschen. Etwa 5 Minuten in 25prozentiger H_2SO_4. 5 Minuten oder weniger in Gemisch von Schwefelsäure-Methylviolett (wie oben Methode 10). H_2O zusetzen, bis die blaue Farbe hervortritt. Untersuchung in H_2O oder Glyzerin.

13) 5 bis 20 Minuten gesättigte Jodtinktur (eventuell Jodtinktur und Jodjodkali Kienitz-Gerloffs, 1- oder 3prozentige Osmiumsäure). Behandlung mit H_2SO_4. Methylviolett-Schwefelsäure und Wasser wie

oben bei Methode 12. Das Präparat wird in 10- bis 25prozentiger H_2SO_4 unter das Deckglas gebracht, über der Gasflamme leicht erwärmt und sogleich untersucht. Bei dem Erwärmen quillt die Membran rasch, die Plasmodesmen werden tiefbraun oder schwarz. Verf. erhielt mit dieser Methode die besten Resultate. — Modifikation von Methode 13: 10 Minuten in 1prozentiger Osmiumsäure, 10 Minuten Jodtinktur und Jodjodkali; unter dem Deckglase in 25prozentiger H_2SO_4 erwärmen und darauf Anilinblau und 75prozentige H_2SO_4 zufließen lassen. *Küster* (*Bonn*).

Schütz, G., u. **Wein, L.,** Mikroskopischer Nachweis von Kartoffelstärke im Brot (Chemiker-Zeitg. Jahrg. **39**, 1915, No. 22, 23, p. 143).

Die Methode der Verff. stützt sich auf die Erfahrung, daß unveränderte sowie verkleisterte Roggen- und Weizenstärkekörner sich mit Anilinfarbstoffen erst bei längerer Einwirkungsdauer färben, während Kartoffelstärke — unveränderte und die durch den Backprozeß veränderte — sich sehr viel schneller färbt. Es wird empfohlen, kleine Brotproben aufzuweichen, zwischen zwei Deckgläsern zu zerdrücken, diese voneinander abzuziehen; dann läßt man auf ihnen das Material lufttrocken werden, zieht dreimal durch die Flamme und färbt. — Neutralrot (gesättigte Lösung) läßt man 1 bis $1^1/_2$ Minuten wirken, Methylenblau (die gesättigte Lösung wird mit 9 Teilen Wasser verdünnt) 1 Minute. Sehr geeignet ist Thionin; die gesättigte Lösung wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt. Die Färbungsdauer beträgt $2^1/_2$ bis 3 Minuten. In allen Fällen bleiben Roggen- und Weizenstärke farblos, die Stärke der Kartoffel färbt sich. *Küster* (*Bonn*).

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Liesegang, R. E., Die Achate. Dresden u. Leipzig (Th. Steinkopff) 1915. 122 pp. m. 60 Abb. geh. 4·80 M., geb. 5·80 M.

Das Liesegangsche Phänomen, das den Mikroskopikern durch die von ihm erklärten Artefakte bekannt geworden ist, ist von seinem Entdecker bereits in mehreren Abhandlungen zur Erklärung der Achatstrukturen mit hervorragendem Erfolge benutzt worden. Wir verweisen auf die vorliegende Darstellung, die Bekanntes wiederholt, viel Neues bringt und neben den erklärbar gewordenen Strukturen — Verf. behandelt die Festungsachate, die Moosachate, Achate mit geradliniger Zonenbildung, die Dendritenbildung der Mokkasteine, die Trümmerachate u. v. a. — auch dem noch problematisch Gebliebenen — den Einflußkanälen, den „Schußkanälen", den Gitterbildungen u. m. a. — ein Kapitel widmet. *Küster* (*Bonn*).

Hörner, F., Beiträge zur Kenntnis des Stauroliths. Mit einem Anhang über eine WÜLFINGsche automatische Schleifmaschine (Inaugural-Dissertation, Heidelberg 1915; 41 pp m. 1 Tfl.).

Für die Besprechung an dieser Stelle ist nur der Anhang von Interesse, weshalb ich mich auch auf diesen beschränke. Der Verf. gibt eine ausführliche Beschreibung des von WÜLFING schon 1908 konstruierten Schleifapparates zur Herstellung orientierter Schliffe und gibt dabei auch seine eigenen Erfahrungen bei dem Gebrauch des Apparates an. Zum Antrieb des Schleifapparates benutzte Verf. einen kleinen SIEMENS-SCHUCKERTschen Gleichstrom-Hauptmotor von etwa $^1/_{40}$ PS; die maximale Tourenzahl beträgt 1500. Durch parallele Einschaltung von mehreren Glühlampen kann die Geschwindigkeit des Motors variiert werden. Durch zwei Schnurscheiben, die mit passenden Gabeln an Trägern fixiert sind, wird die Geschwindigkeit auf den Schleifdreifuß übertragen. Als brauchbare Rotationsgeschwindigkeit fand Verf. eine solche von 150 bis 300 Umdrehungen in der Minute zweckmäßig. Die gläsernen Schleifplatten werden mit Messingklammern, die in die Unterlage gesteckt werden können, festgehalten. Die Übertragung der Bewegung auf den Schleifdreifuß geschieht durch eine Gabel und eine Kurbel. Der Schleifdreifuß bewegt sich auf der Glasplatte in nahezu kreisförmiger Linie; er kann leicht und bequem aus dem Bewegungsmechanismus herausgenommen und in ihn wieder eingesetzt werden; man kann sich also leicht von dem Fortschritt des Schleifprozesses in jedem Stadium überzeugen. Der Schleifdreifuß selbst wiegt etwa 70 g und kann durch kleine Bleigewichte belastet werden. Die Maschine eignet sich vor allem zum Abschleifen und Polieren schon orientierter Kristallflächen. Als Schleifmaterial verwandte der Verf. Karborundum von der Korngröße 10 μ bis 30 μ und 25 μ bis 50 μ, als Poliermittel Diamantine von GUYOT-LUPOLD in Chez-le-Bart (Neuchâtel), Schweiz. Zur schnellen Erzeugung ebener Polituren sind vor allem ebene und fein matt geschliffene Glasplatten erforderlich.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Michel, H., Die künstlichen Edelsteine, ihre Erzeugung, ihre Unterscheidung von den natürlichen und ihre Stellung im Handel. 109 pp. m. 33 Figg. im Text. Leipzig (Wilh. Diebener) 1914. Geb. 4·50 M.

In fleißiger Arbeit ist das bisher über den Gegenstand Geschriebene, das in der Literatur zerstreut ist, hier zusammengetragen und durch zahlreiche Eigenbeobachtungen geprüft und ergänzt. Ein ausführliches Kapitel ist der mikroskopischen Prüfung der Edelsteine gewidmet, wo der Verf. wertvolle Beiträge über die mikroskopischen

Einschlüsse künstlicher und natürlicher Edelsteine gibt, die durch gute Mikrophotographien erläutert sind. Wer sich also über künstliche Edelsteine und die sich daran anknüpfenden Fragen orientieren will, mag getrost zu dem vorliegenden Werke greifen.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Berichtigung.

Auf p. 130 (Dr. G. Tobler-Wolff) ist in der 3. Zeile von unten (Text) zu lesen Durchschnittswerte (statt Durchschnittsreste).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Blücher, H., Der praktische Mikroskopiker. Ergänzt durch eine eingehendere Beschreibung der mikroskopischen Pflanzen- und Tierwelt des Süßwassers von Dr. WALTER RICHTER. (Umschlag-Titel: Praktische Mikroskopie des Pflanzen- und Tierkörpers und der mikroskopischen Welt des Süßwassers.) 4., wesentl. verm. Aufl. (IV, 130 pp. m. 71 Figg.) 8°. Leipzig (Leipziger Lehrmittel-Anstalt von Dr. O. Schneider) 1915. 2 M.; Hlwbd. 3 M.

Brugsch, Th. u. Schittenhelm, A., Lehrbuch klinischer Untersuchungsmethoden für Studierende und Ärzte. 3., erw. Aufl. Mit 388 teils farb. Textabb. u. 2 farb. Tfln. (XVI, 776 pp.) 8°. Wien (Urban & Schneider) 1916. 18 M.; Lwbd. 20 M.

Kiyono, K., Die vitale Karminspeicherung. Ein Beitrag zur Lehre von der vitalen Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Zelldifferenzierungen im entzündeten Gewebe. Jena (G. Fischer) 1914. 258 pp. u. 5 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 298.)

Mindes, J., Chemisch-bakteriologisches Taschenbuch. VIII u. 113 pp. 8°. 2 farb. Tfln. u. 34 Figg. Wien (Deuticke) 1914. 3·50 M.

Szymonowicz, L., Lehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie mit besonderer Berücksichtigung des menschlichen Körpers einschließlich der mikroskopischen Technik. 3., verb. Aufl. 378 Figg. 8°. Würzburg (Kabitzsch) 1915. XIII, 550 pp. 15 M.

---

2. Mikroskop und mikroskopische Hilfsapparate.

Kerber, A., Die Abweichungen optischer Systeme aus Linsen von endlicher Dicke (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Jahrg. 35, 1915, No. 11, p. 273).

Goerz, C. P., Die deutsche optische Industrie im Kriege (Der Staatsbedarf Bd. 1, 1915, p. 173).

Krüts, P., Neue optische Bank (Deutsche Mechan.-Zeitg. H. 1, p. 1, 1916).

---

3. Projektion und Mikrophotographie.

Lehmann, H., Über einen Reihenbilderapparat mit optischem Ausgleich der kontinuierlichen relativen Bildwanderung (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Jahrg. 35, 1915, H. 12, p. 289).

Stange, Praktische Winke für Mikrophotographie (München. med. Wochenschr. Jahrg. 62, 1915, No. 34, p. 1170 m. 1 Abb.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 301).

---

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

(**Field, A. L.**,) Ein durch Dampfdruck betätigter Temperaturregler mit elektrischen Kontakten (Deutsche Mechan.-Zeitg. H. 20, p. 176; vgl. Journ. Americ. Chem. Soc. vol. 36, p. 72).

Flesch, M., Die Entstehung der ersten Lebensvorgänge. Vortrag. Jena (G. Fischer) 1915. 27 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 306.) 0·60 M.

Friedmann, A., Ein flammenloser, versendbarer Brutschrank (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 4, p. 364—367).

Szabó, Z., Elektromos melegitödoboz paraffinmetszetek kinyujtására. Elektrische Wärmeschachtel zur Ausbreitung von Paraffinschnitten. (Botanikai Közle-mények 1915. évi 3—4; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 306).

Unna, P. G., Die Sauerstofforte und Reduktionsorte. Eine histochemische Studie (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 87, 1915, Abt. 1, p. 96—150; Dermatol. Wochenschr. Bd. 61, 1915; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 302).

---

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

---

a. Niedere Tiere.

Ballowitz, E., Zur Kenntnis der Spermien des Herings (Arch. f. Zellforsch. Bd. 14, p. 177—184 m. 3 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 338).

Debeyre, A., Sur la diversité de forme des chondriosomes dans les glandes salivaires (Bibliogr. anat. t. 22, 1912, p. 240—251 m. 3 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 337).

Helly, K., Weitere Studien über den Fettstoffwechsel der Leberzellen. II. Fettgehalt und Fettphanerose (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 60, 1914, H. 1, p. 1—21 m. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 330).

Kornhauser, S. J., A cytological study of the semi-parasitic Copepod, Horsilia apodiformis (PHIL.), with some general considerations of Copepod chromosomes (Arch. f. Zellforsch. Bd. **13**, 1915, H. 3, p. 399—445, 3 Tfln.).

Lehr, R., Die Sinnesorgane der beiden Flügelpaare von Dytiscus marginalis (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 87—150 m. 45 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 309).

Martin, F., Zur Entwicklungsgeschichte des polyembryonalen Chalcidiers Ageniaspis [Encyrtus] fuscicollis DALM. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **110**, 1914, p. 419—479 m. 8 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 307).

Mohr, O. L., Sind die Heterochromosomen wahre Chromosomen? Untersuchungen über ihr Verhalten in der Ovogenese von Leptophyes punctatissima (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 151—176 m. 2 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 307).

Monti, R., Sur les relations mutuelles entre les éléments dans le système nerveux central des insectes (Arch. d'Anat. Micr. t. **15**, 1913, p. 349—433 av. 40 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 306).

b. Wirbeltiere.

Asvadourova, N., Recherches sur la formation de quelques cellules pigmentaires et de pigments (Arch. d'Anat. t. **15**, 1913, p. 153—314 av. 2 pl. vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 315).

Baitsell, G. A., The origin and structure of a fibrous tissue which appears in living cultures of adult frog tissues (Journ. of exper. med. vol. **21**, no. 5, p. 455—479 w. 6 plts.).

Ballowitz, E., Über die Erytrophoren und ihre Vereinigungen mit Iridozyten und Melanophoren bei Hemichromis bimaculatus GILL. Vierter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren und der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 193—219 m. 23 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 316).

Bertrand, J., Un nouveau procédé pour la recherche des mitochondries (Bibliogr. anat. t. **23**, 1913, p. 304—305; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 319).

Beutel, E., Theorie und Praxis der Hornfärbung (Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. 29, 1915, H. 28, p. 170—173; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 317).

Cajal, S., Ramón y, Algunas variaciones fisiológicas y patológicas del aparato reticular de GOLGI (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **12**, 1915, fasc. 2 u. 3, p. 127—227 m. 55 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 326).

Dold, H., Eine einfache Methode zur Gewinnung von Leukocyten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 7, p. 548—550).

Dubreuil, G., Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la lignée connective, descendants du lymphocyte (Arch. d'Anat. Micr. t. 15, 1913, p. 53—151 av. 5 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 317).

Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 76, 1915, H. 7, p. 511—518).

Greschik, E., Die Entstehung der keratinoiden Schicht im Muskelmagen der Vögel (Jahrb. 1 [Jahrg. 21] d. „Aquila" 1914, p. 99—120 [ungarisch u. deutsch]; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 323).

Greschik, E., Histologie des Darmkanals der Saatkrähe [Corvus frugilegus L.] (Jahrb. 1 [Jahrg. 21) d. „Aquila" 1914, p. 121—136 m. 1 Tfl. [ungarisch u. deutsch]; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 324).

Herxheimer, K., Über die Darstellung membranartiger Bildungen im menschlichen Gewebe (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. 52, 1915, No. 40, p. 1040; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 313).

Hulisch, M., Über die Darstellung des Stützgerüstes der Sarkome mittels der Tanninsilbermethode von Achúcarro-Ranke (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 60, 1915, H. 2, p. 245—270; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 321).

Katsunuma, S., Zur Frage der Naphtholblauoxydasereaktion des Nervensystems (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 60, 1914, H. 1, p. 150—162; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 325).

Legendre, R., Bâtonnets intranucléaires des cellules nerveuses (Bibliogr. anat. t. 22, 1912, p. 234—239 m. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 329).

Marchand, R., Les pores des alvéoles pulmonaires (Bibliogr. anat. t. 22, 1912, p. 57—71 m. 7 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 325).

Matsui, Y., Über die Gitterfasern der Milz unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Milzzirkulation (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. 60, 1915, H. 2, p. 271—320 m. 15 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 331).

Matthes, M., Über die Formen der weißen Blutkörper beim Fleckfieber (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 62, 1915, No. 40, p. 1345—1347).

Möllendorff, W. v., Die Dispersität der Farbstoffe, ihre Beziehungen zu Ausscheidung und Speicherung in der Niere. Ein Beitrag zur Histophysiologie der Niere (Anat. Hefte, Abt. 1, Bd. 53, 1915, p. 81—323 m. 11 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 334).

Röthig, P., Weitere Erfahrungen über Vital-Scharlach VIII (Neurol. Zentralbl. Jahrg. 34, 1915, No. 7, 8, p. 265—266; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 329).

Russelt, D. G., The effect of gentian violet on protozoa and on tissues growing in vitro, with especial reference to the nucleus (Journ. Exper. Med. vol. 20, no. 6, 1914, p. 545—555; vgl. Zentralbl. f. Biochemie u. Biophysik Bd. 17, 1915, No. 22, p. 879—880; diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 313).

Sternberg, H., Die Nebenniere bei physiologischer (Schwangerschaft-) und artifizieller Hypercholesterinämie (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **60**, 1914, H. 1, p. 91—123 m. 1 Tfl. u. 2 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 330).

Tello, J. F., Una variación más de los métodos de la plata para la rápida impregnación del tejido conectivo (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **12**, 1915, fasc. 4, p. 285—288; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 320).

Waelsch, L., Über experimentelle Erzeugung von Epithelwucherungen (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **42**, 1916, p. 107—116 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 317).

Walton, A. J., The effect of various tissue extracts upon the growth of adult mammalian cells in vitro (Journ. Exper. Med. vol. **20**, 1914, no. 6, p. 554—573; Zentralbl. f. Biochemie u. Biophysik Bd. **17**, 1915, No. 22, p. 880; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 313).

Wassén, A. L., Beobachtungen an Thymuskulturen in vitro (Anat. Hefte H. 157 [Bd. **52**, H. 2], 1915, p. 279—318 m. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 310).

Weber, A., Le chondriome des leucocytes polynucléaires du sang du gongyle [Gongylus ocellatus Gmelin] (Bibliogr. anat. t. **23**, 1913, p. 96—104 av. 6 figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 318).

Ziveri, A., Metodo rapido di colorazione delle fibre connettive (Pathologica, Anno **7**, 1915, no. 156, p. 222).

c. Mikroorganismen.

Asch u. Adler, Die Degeneration der Gonokokken (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 39, p. 1309—1310 m. 2 Figg.).

Bertarelli, E., Zellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **76**, H. 6, 1915, p. 463—464; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 339).

Bötticher, Ed., Die bakteriologische Choleradiagnose, unter besonderer Berücksichtigung der von Aronson und Lange neuerdings angegebenen Choleranährböden (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 44, p. 1303—1305).

Brew, J. D., Vergleich zwischen der mikroskopischen und Plattenmethode zum Zählen der Bakterien in der Milch (New York Agric. Exper. Stat. no. 333, p. 1—38. Geneva, N. Y. 1914; vgl. Int. agr.-techn. Rundschau, 1915, H. 4, p. 678).

Broers, C. W., Het bacteriologisch onderzoek bij diphtherie (Tft. sociale hygiëne Jahrg. **17**, 1915, p. 129—144).

Bronsart, H. v., Der Kreis der im Darm vorkommenden Formen des Bacterium coli und ihre Differentialdiagnose (Naturwiss. Wochenschr. N. F., Bd. **14**, 1915, No. 41, p. 648—650).

Bujwuid, O., Eine neue Methode der Bestimmung von Bakterienmengen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 3, p. 286—288).

Bull, C. G., A method of existimating the bacteria in the circulating blood in rabbits (Journ. of exper. med. vol. 20, 1914, no. 4, p. 237—248).

Carbonell, M. V., Über eine neue Methode des Nachweises des Typhusbazillus im Wasser (Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 28, 1915, No. 37, p. 997—998 m. 1 Fig.).

Giugni, F., Sulla presenza della Leishmania Donovani e lo sviluppo colturale dal sangue periferico nel Kala-azar (Pathologica, Anno 7, 1915, no. 151, p. 84—87).

Guggenheimer, R., Hefenwasserpeptonagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 4, p. 363).

Halbey, Die Verwendbarkeit der „Schrägagarröhrchen-Typhus-Diagnose" (nach H. Koenigsfeld) für die Frühdiagnose des Typhus abdominalis (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 39, p. 1148—1150).

Janicki, C., Untersuchungen an parasitischen Flagellaten. 2. Teil. Die Gattungen Devescovina, Parajoenia, Stephanonympha, Calonympha. — Über den Parabasalapparat. — Über Kernkonstitution und Kernteilung (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **112**, 1915, H. 4, p. 573—691).

Köhlisch u. Otto, Vergleichende Untersuchungen und Versuche mit einigen Cholera-Effektivnährböden. Ein neuer Elektivnährboden (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. **80**, 1915, H. 3, p. 431—446).

Koenigsfeld, H., Die Typhusbazillenzüchtung mittels der Galleschrägagarröhrchen (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 47, p. 1391—1393).

Lange, C., Ein neuer Nährboden für die Choleradiagnose (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 38, p. 1119—1121).

Lichtenstein, H., Über die Herstellung des Blutnährbodens (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 4, p. 362—363).

Lucks, R., Die mikroskopische Untersuchung von Fleisch- und Fischmehl (Fühlings landw. Zeitg. 1915, H. 19, 20, p. 508—514 m. 8 Figg.).

Mohorčič, H., Die Regenerierung des verbrauchten Endoagars (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 34, p. 1143—1144).

Oberstadt, Über einen neuen Eiernährboden (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. **79**, 1914, H. 1, p. 134—144).

Orla-Jensen, Der Biorisator. (Deutsch von J. Kaufman.) (Milchw. Zentralbl. 1915, H. 18, p. 273—277 m. 1 Abb.).

Perlmann, A., Farbmethode der Gruber-Widal-Reaktion (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **62**, 1915, No. 13, p. 435; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 339).

Petroff, S. A., Eine neue Methode zur Isolierung und Kultur des Tuberkelbazillus (Zeitschr. f. Tuberk. Bd. **24**, 1915, H. 4, p. 262—265).

Rochs, E., Zur Differentialdiagnose der Streptokokken und Pneumokokken (Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. **220**, 1915, H. 3, p. 327—346).

Salus, G., Zur bakteriologischen Dysenteriediagnose (Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. **28**, 1915, No. 41, p. 1101—1103).

Schmitz, K. E. F., Biorisierte Milch (Deutsche landw. Presse 1915, No. 86, p. 738 m. 3 Figg.).

Schmitz, K. E. F., Biorisierte Milch (Milchw. Zentralbl. Jahrg. 1915, H. 16, p. 241—246 m. 3 Figg.).

Schmitz, K. E. F., Über die säurefesten Trompetenbazillen (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. **80**, 1915, H. 3, p. 457—466 m. 2 Tfln.).

Schürmann, W. u. Fellmer, Th., Zur bakteriologischen Choleradiagnose (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **41**, 1915, No. 39, p. 1183—1185).

Schürmann, W., u. Pringsheim, E. G., Zum Nachweis von Diphtheriebazillen im Originaltupferausstrich (Med. Klinik Jahrg. **11**, 1915, No. 42, p. 1158—1159).

Szász, A., Ein einfaches Verfahren zur Bouillonbereitung aus Blutkuchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **77**, 1915, H. 1, p. 111—112).

d. Botanisches.

Derschau, M. v., Der Austritt ungelöster Substanz aus dem Zellkerne (Arch. f. Zellforsch. Bd. **14**, 1915, p. 255—277 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 343).

Gothan, W., Über die Epidermen einiger Neuropteriden des Karbons (Jahrb. d. kgl. preußischen geolog. Landesanstalt für 1914, Bd. **35**, 1915, Teil II, H. 2, p. 373—381 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 341).

Guilliermond, A., Recherches sur le chondriome chez les champignons et les algues (Rev. gén. de bot. t. 27, 1915, no. 319, p. 193; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 340).

Henneberg, W., Über das „Volutin“ oder die „metachromatischen Körperchen“ in der Hefezelle (Wochenschr. f. Brauerei 1915, No. 36, p. 301; No. 37, p. 312; No. 38, p. 320; No. 39, p. 326; No. 40, p. 334; No. 41, p. 345; No. 42, p. 351 m. Figg.).

Henneberg, W., Über das Volutin (= metachromatische Körperchen) in der Hefezelle (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **45**, 1916, No. 1—5, p. 50—62 m. 46 Figg. im Text).

Henneberg, W., Über den Kern und über die bei der Kernfärbung sich mitfärbenden Inhaltskörper der Hefezellen. Ein Beitrag zur Erkennung des physiologischen Zustandes der Hefezellen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **44**, 1915, H. 1—4, p. 1—57 m. 21 Figg. im Text).

Kindler, Th., Gametophyt und Fruchtansatz bei Ficaria ranunculoides (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 73—85; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 347).

Kylin, H., Die Entwicklungsgeschichte von Griffithsia corallina (Lightf.) Ag. (Zeitschr. f. Bot. Bd. **8**, 1916, H. 2, p. 97—123; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 341).

Naumann, E., Mikrotekniska Notiser. I—III. Mit deutschem Resumé (Bot. Notiser 1915, p. 49—60; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 346).

Naumann, E., Mikrotekniska Notiser. IV. Den absoluta alkoholens umbärlighet (Bot. Notiser 1916, p. 35; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 346).

Pascher, A., Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Heft 5: Chlorophyceae II. Tetrasporales, Protococcales, einzellige Gattungen unsicherer Stellung; bearbeitet von E. LEMMERMANN, J. BRUNNTHALER und A. PASCHER. 250 pp.; 402 Abbild. im Text. Jena 1915 (vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 344).

Schütz, G., u. Wein, L., Mikroskopischer Nachweis von Kartoffelstärke im Brot (Chemiker-Zeitg. Jahrg. **39**, 1915, No. 22, 23, p. 143; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 349).

Stein, F., Über Ölkörper bei Oenotheraceen (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. 65, 1915, No. 2, p. 43—49).

Tiskernik, A., Die Plasmaverbindungen bei Moosen (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 107—120; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 347).

Vouk, V., Zur Kenntnis der mikrochemischen Chitinreaktion (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **33**, 1915, H. 8, p. 413; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 347).

Wettstein, Fr. v., Geosiphon FR. WETTSTEIN eine neue interessante Siphonee (Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. **65**, 1915, No. 5, 6, p. 145—156).

Will, H., Beobachtungen über das Vorkommen lebens- und vermehrungsfähiger Zellen in sehr alten Wurzelkulturen von untergäriger Bierhefe (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **44**, 1915, No. 1, 4, p. 58—75).

Will, H., Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an vier Kulturen der Gattung Pseudosaccharomyces KLOCKES (Saccharomyces apiculatus REESS) (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 2, Bd. **44**, 1915, No. 9, 13, p. 225—290).

Wisselingh, C. van, Über die Anwendung der in der organischen Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochemischen Untersuchung (Folia microbiologica Jahrg. **3**, 1915, H. 3, p. 1—34 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 341).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Hörner, F., Beiträge zur Kenntnis des Stauroliths. Mit einem Anhang über eine WÜLFING sche automatische Schleifmaschine (Inaugural-Dissertation. Heidelberg 1915; 41 pp. m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 350).

Gothan, W., Über die Epidermen einiger Neuropteriden des Karbons (Jahrb. d. kgl. preußischen geolog. Landesanstalt für 1914, Bd. **35**, 1915, Teil II, H. 2, p. 373—381 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 341).

Liesegang, R. E., Die Achate. Dresden u. Leipzig (Th. Steinkopff) 1915. 122 pp. m. 60 Abb. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 349.) geh. 4·80 M., geb. 5·80 M.

Michel, H., Die künstlichen Edelsteine, ihre Erzeugung, ihre Unterscheidung von den natürlichen und ihre Stellung im Handel. 109 pp. m. 33 Figg. im Text. Leipzig (W. Diebener) 1914. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 350.)

Band 32. Heft 4.

Über die Mallorysche Bindegewebsfärbung mit Karmin und Azokarmin als Vorfarben.

Von

Martin Heidenhain

in Tübingen.

Es gibt eine große Reihe von Aufgaben in der mikroskopischen Anatomie, welche sich nur mit Hilfe einer guten Bindegewebsfärbung bewältigen lassen. Meist liegen die Verhältnisse hierbei so, daß an die gleichzeitige Kern- und Plasmafärbung keine besonders großen Ansprüche gestellt werden, wenn diese Teile nur in irgendeinem farbigen Kontraste rein ausgefärbt werden; die besondere Anforderung ist vielmehr in der Aufgabe enthalten, das Bindegewebe in einen scharfen färberischen Gegensatz zu den Zelleibern zu bringen. Zu diesem vorgestellten Zwecke wird unter Anatomen und Pathologen meist das Verfahren von van Gieson benutzt, welches mit Hämatoxylin, Pikrinsäure und Säurefuchsin arbeitet. Die auf diese Weise erzielten Tinktionen sind aber weder sehr scharf, noch auch in genügendem Grade haltbar, da das Säurefuchsin mit der Zeit nachläßt. Dagegen liefert die Mallorysche Bindegewebsfärbung — mit Anilinblau — außerordentlich elektive Bilder, ermöglicht beispielsweise eine prächtige Färbung des Reticulums in den Lymphdrüsen und eine gute Darstellung der Basalmenbranen der Epithelien; das Verfahren wäre demnach der van Giesonschen Färbung ohne weiteres vorzuziehen, wenn nicht bei der Wahl der Vorfärbung, durch welche Plasma und Kern charakterisiert werden sollen, Schwierigkeiten entstünden. Nach Lage und Umständen kann nur eine rote Nuance in Betracht kommen und der Autor selbst hat dafür das Säurefuchsin gewählt, welches aber, wie wir schon sagten, nicht genügend haltbar ist. Ich habe

daher seit einer Reihe von Jahren dem Gegenstande meine Aufmerksamkeit gewidmet und bin dazu gekommen, das MALLORYsche Verfahren in allen Teilen zu erneuern, worüber ich nunmehr Bericht erstatten will[1].

Leider sind mir die Originalarbeiten MALLORYS nicht zugänglich gewesen und ich kann mich daher nur auf die kurzen Auszüge in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik berufen (II. Aufl., p. 49 u. 398). MALLORY färbt die Schnitte zunächst einige Minuten lang in einer 0·1prozentigen Säurefuchsinlösung, wäscht in Wasser aus, überträgt für einige Minuten in eine 1prozentige Lösung von Phosphormolybdänsäure, wäscht abermals aus und färbt dann einige Minuten lang in folgender Mischung: wasserlösliches Anilinblau 0·5 g, Orange G 2 g, Oxalsäure 2 g, Wasser 100 g; Abspülen, Alkohol usw. Wir haben also im wesentlichen drei Stationen: 1) die Vorfärbung in Säurefuchsin; 2) die Beizung in Phosphormolybdänsäure; 3) die Bindegewebsfärbung mit Anilinblau. Später hat MALLORY die zweite Station ausgeschaltet und die Phosphormolybdänsäure der Anilinblaulösung zugesetzt. Ich meinerseits habe jedoch die ursprüngliche Dreiteilung des Verfahrens beibehalten, weil alsdann der Gang des Verfahrens in allen Teilen unter dem Mikroskop verfolgt werden kann.

Vorfarben. Als Vorfarben wurden Karmin und Azokarmin benutzt, letzteres ein Anilinfarbstoff aus der Gruppe der Rosinduline.

Es wird sich verlohnen aus bestimmtem Anlasse zunächst über die **Karminfärbung** einige Worte zu verlieren. Ich setze voraus, daß man auf den meisten Instituten über eine gute Karminfärbung verfügen und Wert darauf legen wird, eine solche zu besitzen. Der Umstand aber, daß ich in den letzten Jahren sehr viele Mißerfolge mit Karmin hatte, veranlaßt mich, dies mitzuteilen und den Gegenstand zur Diskussion zu stellen. Hierorts habe ich neben der Boraxkarminfärbung wenigstens 10 Jahre lang hintereinander den größten Nutzen von der P. MAYERschen Karmalaunfärbung gezogen. Während dieser ganzen Zeit ergab ein Karminsäurepräparat, welches ich von GRÜBLER & Co. in Leipzig erhielt, nach der bekannten Vorschrift in der Zusammensetzung mit Alaun ganz vortreffliche Resultate. Bei 24stündiger Färbungsdauer erhielt ich jederzeit ohne besondere Nachbehandlung kräftige, differente, im Farbentone oft bewunderungs-

[1]) Vgl. hierzu: M. HEIDENHAIN, Über die Bearbeitung der Sehnen zu Kurszwecken, insbesondere über die Verwendung des Rutheniumrotes und der MALLORYschen Bindegewebsfärbung (Diese Zeitschr. Bd. 30, 1913).

würdig schöne Bilder: eine intensive korallenrote Färbung der Kerne, hellere Plasmafärbung in gleicher Nuance und dazu eine gelblichrote Färbung des Bindegewebes. In den letzten Jahren indessen wurde diese Karminfärbung schlechter und zuletzt versagte sie vollständig, obwohl das Material aus derselben Quelle bezogen und die Lösung in der nämlichen Weise angefertigt wurde. Der Farbstoff hatte gewissermaßen die Färbekraft verloren; die Schnitte sahen ungemein blaß aus, die Kerne traten wenig hervor und das Bindegewebe nahm verhältnismäßig mehr Farbe auf als sonst, so daß die mikroskopischen Bilder verschwommen und gleichartig ausfielen. Wurde mehr Karmin in Lösung gebracht, als der Vorschrift entspricht, so entstanden allerdings kräftigere Färbungen, aber das Bindegewebe war im Verhältnis zum Kern und Plasma viel zu stark gefärbt, so daß auch jetzt die nötige Differenzierung des Bildes nicht vorhanden war. Kurz es war mit allen neuerdings hergestellten Farbstofflösungen nichts anzufangen.

Während dieser Versuche, die zur speziellen Prüfung der Angelegenheit in Gang gesetzt wurden und sich über mehrere Wochen hin ausdehnten, hat sich mit Sicherheit herausgestellt, daß der von Grübler & Co. verkaufte Farbstoff gegen früher seine Natur geändert hat. In dem der letzten Arbeitsperiode vorangegangenen Jahrzehnt konnten wir mit derselben Karmalaunlösung über ein Jahr lang mit bestem Erfolge färben; nur allmählich wurde die Lösung dunkler und dunkler und ebenso die Präparate, die damit gewonnen wurden; schließlich wurden diese anstatt hochrot braunviolett und dann goß ich die überalterte Lösung fort. Im Gegensatz hierzu zeigt sich jetzt, daß erstlich die frisch hergestellte Farbstofflösung sofort dunkler ausfällt als sonst und daß sie zweitens schon vom ersten Tage absichtlich nachdunkelt; dabei setzen sich gleicherzeit beträchtliche Mengen einer schwärzlichroten Materie ab, so daß die Lösungen sehr bald verschmutzt aussehen.

Daraufhin bezog ich von Merck (Darmstadt) das als Acidum carminicum puriss. bezeichnete Präparat, welches sich jedoch nicht für histologische Zwecke eignet. Später erhielt ich von Kahlbaum & Co. (Adlershof bei Berlin) ein Präparat (Karminsäure „Kahlbaum“), welches in der schwärzlichroten Nuance der Lösung und in der üblen Eigenschaft des Absetzens den Grüblerschen Präparaten gleicht, aber die Grundbedingung erfüllt, stark zu färben. Werden die Schnitte, wie üblich, 24 Stunden lang tingiert, so sind sie total überfärbt und ich differenziere sie dann in 70prozentigem Alkohol, dem wenig Salzsäure zugesetzt ist (1 ccm Salzsäure auf 1000 Alkohol; die Salzsäure

ist in diesem Falle die in den Apotheken erhältliche reine Salzsäure des Deutschen Arzneibuches von 1·126 bis 1·127 spez. Gew. und etwa 25prozentigem Säuregehalt). Die Schnitte differenzieren sich leicht und gut und werden danach sofort in Brunnenwasser entsäuert, weil, wie es scheint, die MALLORYsche Färbung den Salzsäuregehalt der Schnitte nicht verträgt.

Diese meine Erfahrungen mit vielen verschiedenen Karminpräparaten haben von neuem gezeigt, daß das Karmin durchaus kein Mittel von konstanter Zusammensetzung ist; ändert sich in der Gewinnung des Farbstoffes ein vielleicht im übrigen für die Technik unwesentliches Moment, so können daraus für den Mikroskopiker große Verlegenheiten erwachsen. Ich entsinne mich sehr deutlich, daß in den achtziger Jahren die Karmine ganz anders färbten als in dem folgenden Dezennium und daß man damals ein stark und gut färbendes Pikrokarmin haben konnte, welches später in dieser Weise nicht mehr zu erhalten war. Diese Verhältnisse werden sich erst dann zu unserem Vorteile ändern, wenn es möglich sein wird, Karmin auf synthetischem Wege darzustellen. Leider scheint für den Chemiker der Anreiz zu fehlen, sich mit der Synthese des Karmins eingehend zu beschäftigen.

Azokarminfärbung. Es ist nun jedenfalls vorteilhaft, wenn man mit den Vorfarben wechseln kann und so habe ich an Stelle des mitunter schwierigen Karmins in den letzten Jahren vielfach das Azokarmin gesetzt. Dieses hat chemisch mit dem Karmin nichts gemein, gleicht ihm jedoch im Farbentone, worauf die Namengebung sich zurückleitet; es handelt sich vielmehr im Azokarmin um einen Anilinfarbstoff aus der Gruppe der Rosinduline, welcher den Vorzug hat, außerordentlich echt zu sein. Früher verwertete ich die Körper dieser Art aus alkoholischer Lösung[1], es hat sich jedoch gezeigt, daß die besonderen Eigenschaften dieser Farbstoffe allein aus wässeriger Lösung zur Entwicklung gebracht werden können.

Die Badische Anilin- und Sodafabrik stellt zwei verschiedene Azokarmine mit den Handelsmarken B und G her. Ersteres ist ein rotes Pulver, welches in Wasser leicht mit karminroter, schwach blaustichiger Farbe in Lösung geht; auf die Schnitte aufgefärbt, ergibt es eine fuchsinartige Nuance. Das Azokarmin G hingegen wird als eine gelbrote, bronzeartig glänzende Paste in den Handel gebracht;

---

[1] Vgl. M. HEIDENHAIN, Über die Anwendung des Azokarmins und der Chromotrope (Diese Zeitschr. Bd. 22, 1905, p. 337 ff.).

diese besteht aus einer Unsumme feinster, nadelartiger, schwach gelbroter Kriställchen, welche sich schwer in Wasser lösen und darin aufgeschwemmt das Lösungsmittel in stark das Licht reflektierenden Wolken erfüllen. Die Kriställchen passieren mit Leichtigkeit den Filter und die durchlaufende Flüssigkeit bleibt immer trübe, weil selbst bei wochenlangem Stehen nicht alle suspendierten Körperchen sich zu Boden setzen. Aus diesen Gründen ist es schwierig, mit dem Azokarmin G zu arbeiten; aber trotzdem haben wir schließlich — nach jahrelangen Versuchen — diesen Farbkörper (wenigstens im Falle der Kernfärbung) der anderen Marke vorgezogen, weil er kräftiger färbt und im Verein mit der Malloryschen Bindegewebsfärbung wegen seiner gelbroten Nuance außerordentlich kontrastreiche Bilder liefert. Im übrigen ist man ja in der Lage, je nach den Umständen mit den beiden Farbstoffen wechseln zu können.

Die Azokarmine sind saure (!) Farbkörper ebenso wie das beim Malloryschen Originalverfahren verwendete Fuchsin. Warum der letztere Autor eine saure Anilinfarbe zur Kernfärbung seiner Präparate benutzte, ist leicht einzusehen; denn bei Anwendung einer basischen Farbe (Safranin, Pyronin usw.) wäre die Kernfärbung beim Auffärben mit Anilinblau, welches selbst ein saurer Körper ist und aus saurer Lösung verwendet wird, wieder verloren gegangen.

Nun ist bekannt, daß die sauren Farbstoffe in erster Linie Plasmafärber sind, nicht aber typische Kernfarbstoffe. So ist es auch beim Azokarmin. Dieses leistet als Plasmafarbstoff sogar in gewisser Hinsicht mehr als alle anderen Farbstoffe von ähnlicher chemischer Qualität und nur auf Umwegen kann man den Körper dazu bringen, auch die Kerne isoliert zu färben. Je nach der Verwendungsart erhält man demgemäß ganz verschiedene Bilder und meine nachfolgende Darstellung muß darauf Rücksicht nehmen[1].

Farbstofflösungen. Wir verwenden das Azokarmin B in wässe-

---

[1]) Als Fixierungsmittel eignen sich in Ansehung der erstrebten Zwecke der Färbung besonders die folgenden: 1) Sublimat-Formol. Man verdünne die bekannte konzentrierte Sublimat-Kochsalzlösung mit dem gleichen Volumen einer 40prozentigen Formollösung (oder Sublimat 50 Vol., Wasser 30 Vol., Formol 20 Vol.); 2) Zenker-Formol. Zenkersche Flüssigkeit mit 10 bis 20 Prozent Formol; 3) Trichloressigsäure-Formol, eine 5prozentige Trichloressigsäure mit 10 bis 20 Prozent Formol; 4) Tübinger-Sublimat-Säuremischung: Konzentrierte Sublimat-Kochsalzlösung 50 Vol., Wasser 30 Vol., Trichloressigsäure 2 g, Eisessig 4 Vol., Formol 20 Vol. — Die Schnittdicke sollte der Regel nach 5 bis 6 μ und nicht über 8 μ betragen.

rigen Lösungen von 0·25 bis 1 Prozent. Von dem Azokarmin G stellen wir eine 1prozentige Aufschwemmung in Wasser her, filtrieren (!) und benutzen das durchlaufende Filtrat. Beim Filtrieren bleibt ein Teil der Kristallmasse zurück, ein anderer Teil geht, wie erwähnt, in das Filtrat über, und zwar gerade ebensoviel, daß beim Anwärmen im Paraffinofen bei etwa 56° die ganze Kristallmasse sich klar löst; diese Lösung bleibt bei Körpertemperatur (zwischen 35° und 40°) bestehen, während bei Zimmertemperatur sich die Kristallmasse wieder ausscheidet. Jedenfalls ist man in der Lage, bei mäßiger Erwärmung die Schnitte in einer völlig klaren Lösung färben zu können. Die Lösungen müssen stark mit Essigsäure angesäuert werden!

Plasmafärbung. Man färbt entweder kalt oder, wenn man die Wirkung zu verstärken wünscht, so stellt man die Schnitte auf $^1/_2$ bis 1 Stunde in den Paraffinofen bei 56° und hält sie dann weiterhin noch 1 bis 2 Stunden auf 35 bis 40°. Das Erwärmen ist ganz besonders für das Azokarmin G zu empfehlen, weil, wie schon besprochen, alsdann die Kristallmasse verschwindet. Im übrigen schadet die Erwärmung den Schnitten gar nichts, da die angesäuerte Farbstofflösung eiweißfällend wirkt, und man kann daher, wenn nötig, den Aufenthalt der Schnitte im Paraffinofen auf 2 bis 3 Stunden verlängern.

Hierzu geben wir noch folgende Ausführungen. Anfangs haben wir geglaubt, daß die Färbung der Schnitte in längstens einer halben Stunde vollständig und die weitere Einwirkung von seiten des Farbstoffes überflüssig sei. Es hat sich jedoch gezeigt, daß dem nicht so ist. Man soll vielmehr, ob man nun in der Kälte oder Wärme färbt, nicht unter 1 Stunde heruntergehen, wodurch in erster Linie die Gleichartigkeit der Anfärbung befördert wird. Weiterhin ist die Verstärkung der Färbung in der Wärme äußerst beträchtlich, kann aber bei Gelegenheit der Plasmafärbung mitunter hinderlich sein, wenn das Bindegewebe so viel Farbstoff aufnimmt, daß das Präparat hinterdrein nicht mehr vollständig ausdifferenziert werden kann.

Über die Weiterbehandlung der auf Plasmafärbung verarbeiteten Schnitte genügen zunächst einige kurze Ausführungen; das Nähere wird weiter unten im Zusammenhange mitgeteilt werden. Legt man die überfärbten Schnitte nach flüchtiger Abspülung in eine 5prozentige Lösung von Phosphorwolframsäure ein, so wird das Bindegewebe mit der Zeit extrahiert, während Plasma und Kern anscheinend von der Farbe gar nichts abgeben. Die vollständige Klärung des Bindegewebes braucht je nach den Umständen verschieden lange Zeit. Am leichtesten extrahieren sich Schnitte aus Trichloressigsäure oder Ge-

mischen, welche diese Säuren enthalten. Etwas weniger leicht extrahieren sich Schnitte aus Sublimat oder Zenkerscher Flüssigkeit, besonders wenn die Bindegewebsmassen sehr dicht und fest sind. Jedenfalls ist die P-W-Säure ein Reagens, welches die Struktur der Gewebe in gar keiner Weise benachteiligt und daher kann man sie über viele Stunden lang einwirken lassen, wenn die Extraktion einmal schwierig vonstatten gehen sollte.

Danach werden die Schnitte mit Wasser abgespült und je nach Wunsch entweder in diesem Zustande belassen oder nachgefärbt.

Resultate der Plasmafärbung. Wer ein elegantes Präparat zu sehen wünscht, wird in den meisten Fällen von dem Effekt der eben beschriebenen Färbung nicht sehr entzückt sein. Denn es wird in diesen Schnitten eben nur das Plasma durch einen hochroten Ton gut charakterisiert, während schon die Kernfärbung stark zurücktritt. Jedoch diese Färbung eignet sich für bestimmte Zwecke in geradezu hervorragendem Grade, z. B. wenn es gilt, die glatten Muskelzellen in dem sie umgebenden Bindegewebe optisch zu isolieren. So ist es auf die angegebene Weise ein leichtes, die sonst schwer darstellbaren glatten Muskelfasern in den Milztrabekeln des Menschen, in der Kapsel und den Bälkchen der Lymphdrüsen, ebenso die verstreuten Längsmuskelfasern in der Adventitia der großen Gefäße (z. B. der Arteria iliaca externa) zur Anschauung zu bringen. Mitunter auch erhält man in prächtiger Weise die Verzweigungen der Bindegewebszellen usw. Ich kann daher diese Art der optischen Isolierung des Plasmaleibes der Zellen für spezielle Untersuchungszwecke nur empfehlen.

Färbt man derartige Präparate mit Anilinblau nach, so wird das Bild zwar bunter, meist aber nicht deutlicher. Ich habe daher, wenn die spezifische Plasmafärbung in Frage kam, die Nachfärbung meist unterlassen.

Kernfärbung. Färbungen des Kerns können nicht nur durch basische, sondern auch durch saure Anilinfarben erhalten werden. Diese doppelte Färbungsmöglichkeit beruht in der Grundlage darauf, daß alle Eiweißkörper sauer-basischer Natur sind, also im Prinzip die Farbstoffe beider Klassen aufzunehmen vermögen. Dazu kommt der Umstand, daß nur das Chromatin der Autoren, das von mir sogenannte Basichromatin, vorwiegend sauren Charakter hat und demzufolge leichter die basischen sogenannten „Kernfarbstoffe" annimmt, während das von mir seinerzeit beschriebene zweite Chromatin, Oxychromatin, umgekehrt leichter sich mit den sauren Farbkörpern ver-

bindet. Erzwingt man nun in unserem Falle eine sehr intensive Färbung, so nehmen wegen der Janusnatur der Eiweißkörper beiderlei Chromatine die Farbe auf, und es kommt nur noch darauf an, den Farbstoff durch geeignete Maßnahmen auf die Kerne zu beschränken. Das von uns erprobte Verfahren ist das folgende.

Zunächst hat sich gezeigt, daß die Kerne besser gefärbt werden, wenn man die Schnitte vorher alkalisch macht. Man muß sich etwa vorstellen, daß infolge der Fixierung mit sauren Chemikalien viele Säurereste am Eiweiß hängen, und daß es besser ist, diese wiederum abzuspalten, damit die Säurekapazität von vornherein eine größere ist. Es ist nun bekannt, daß anorganische Alkalien Eiweiß lösen und selbst in geringen Konzentrationen von üblem Einflusse auf die Schnitte sind. Wir verwenden daher ebenso wie zu der nachfolgenden Differentiation der Schnitte ausschließlich aromatische Basen, welche wir im Verhältnis von 1 : 1000 in 96prozentigem Alkohol lösen. Brauchbare alkalische Stoffe dieser Art gibt es viele; wir haben unsererseits Versuche mit Anilin, Phenylendiamin, Pyridin, Chinolin und Cinchonin gemacht und sind schließlich im allgemeinen beim Anilin stehen geblieben, weil es das einfachste und billigste ist. Wir wollen aber erwähnen, daß das Cinchonin, ein zweibasisches Alkaloid, stärker wirkt als Anilin und als Vorbeize nach unseren letzten Erfahrungen recht gute Dienste leistete; dieser Körper verdient daher im Hinblick auf die weitere Entwicklung unserer Technik alle Beachtung.

Man bringt also zunächst die Schnitte in die besprochene Anilin- oder Cinchoninlösung (1 : 1000 Alkohol von 96 Prozent), von welcher man jederzeit eine größere Menge vorrätig halten mag. Setzt man dieser Lösung wenig Wasser zu, so wirkt sie wegen der Beförderung der Ionisation des alkalischen Stoffes in noch stärkerem Grade basisch, so daß man auch stark saure Schnitte mit diesem Mittel jederzeit wird entsäuern können.

Nach einer halben Stunde überträgt man die Schnitte in die Lösung von Azokarmin G, wärmt diese $^1/_2$ bis 1 Stunde im Thermostaten bei 56° an, läßt die Schnitte eventuell weiterhin etwa 1 bis 2 Stunden bei Körpertemperatur in der Farbe stehen, spült sie dann mit Wasser ab und differenziert sie in der angegebenen alkoholischen Anilinlösung.

Gewöhnlicherweise wird man nun die Beobachtung machen, daß der Farbstoff sich in der Anilinlösung aus dem Bindegewebe und dem Plasma in Wolken abhebt und die Kerne allmählich hervortreten.

Geht die Differenzierung indessen zu langsam vor sich, so ist es dienlich, aus einer Pipette oder einem kleinen Becherglase eine geringe Menge, wenige Tropfen, Wassers zuzusetzen, worauf die Differentiation schneller in Gang kommt. Durch Dosierung des Wasserzusatzes kann man in bequemer Weise die Schnelligkeit der Extraktion regulieren. Der Vorgang der Differentiation läßt sich in leichter Weise unter dem Mikroskop kontrollieren und jederzeit momentan unterbrechen, indem man die Schnitte in 96prozentigen Alkohol überträgt, dem ein wenig Essigsäure zugesetzt wurde. Bei der Rückwärtsübertragung in die Anilinlösung beginnt die Extraktion alsbald von neuem.

Ist die Differentiation beendigt, so wäscht man das Anilin in essigsaurem Alkohol aus und bringt die Schnitte zur Beizung und völligen Entfärbung des Bindegewebes in 5prozentige P-W-Säure.

Es ist möglich, daß diese so beschriebene Kernfärbung nicht allgemein brauchbar ist. Wir haben sie bisher in weitester Ausdehnung bei einer Arbeit über die Schilddrüse, ferner bei den Organen der lymphatischen Gruppe verwendet. Ein Versuch, embryonales Material (Hühnerembryo vom 4. Tage) zu färben, gelang vollkommen. Ebenso erhielten wir eine gute Ausfärbung der Kerne in der Darmwand des Salamanders, welche ich bei solcher Gelegenheit immer als Testobjekt benutze. Dabei hat sich gezeigt, wie nicht anders zu erwarten war, daß es sich um eine Totalfärbung beider Chromatine, des Oxychromatins und des Basichromatins, handelt. Neuere Versuche mit mannigfachen Geweben scheinen jedoch zu zeigen, daß man die Kerne nicht genügend differenzieren kann, wenn das Plasma viele granuläre Elemente enthält. Trotz dessen ist die Veröffentlichung unseres Verfahrens von Wichtigkeit, weil es hier zum ersten Male gelungen ist, saure Farben in typischer Weise zu differenzieren. Die angegebene Methode beruht auf Prinzipien allgemeinster Art und ist einer reichen Variation fähig, durch besondere Auswahl der sauren Farben und durch Variation der zur Vorbeize und zur Differentiation benutzten basischen Stoffe. Wir sind also zu der Erwartung berechtigt, daß von hier aus weitere Entwicklungen unserer Technik möglich sind.

Was das Resultat am Schnitt anlangt, so haben wir bei der Schilddrüse, den Lymphdrüsen, der Thymus, den Guthelkörpern usw. prächtige Kernfärbungen erzielt, also etwa so, wie bei den besten Karminfärbungen. Ich will aber auch hinzufügen, daß bei der Differentiation kein anderes histologisches Objekt in besonderer Weise hervortritt. Der Effekt der Färbung ist also ganz und gar einseitiger Natur.

Extraktion des Bindegewebes. Nach Angabe der Lehr- und Handbücher läßt Mallory die Schnitte zwischen Vor- und Nachfärbung eine 1prozentige Phosphormolybdänsäurelösung passieren; der Aufenthalt in dieser wird nur auf wenige Minuten bemessen. Welche theoretische Erwägungen dieser Maßnahme zugrunde gelegen haben, ist mir unbekannt. Ich habe mehrfach die Phosphormolybdänsäure in der vorgeschriebenen Weise verwendet, aber keinen schlagenden Nutzen davon gesehen, weil bei irgendwie längerem Aufenthalt in der darauf folgenden Anilinblaulösung die Kerne in intensiver Weise die Farbe annehmen. Ich ersetzte darauf die 1prozentige Phosphormolybdänsäure durch eine 5prozentige Phosphorwolframsäure und kam zu besten Resultaten als ich diese über längere Zeit hin einwirken ließ.

Die Wirkung der P-W-Säure ist eine doppelte. Sie extrahiert das Azokarmin (und ebenso auch eventuell das Karmin) aus dem Bindegewebe und bereitet letzteres auf diese Weise für die Anilinblaufärbung vor, wobei sie jedoch die Plasma- und Kernfärbung in gar keiner Weise angreift (Karmin wird etwas extrahiert!). Weiterhin beschränkt sie die Einwirkung des Anilinblaus auf das Bindegewebe und verhindert mehr oder weniger vollständig die Anfärbung von Plasma und Kern! Zwar geht ein Hauch der blauen Farbe oft auf die Zellenleiber über, aber es handelt sich nicht mehr um eine eigentliche histologische Anfärbung, vielmehr wird dadurch lediglich der Farbenton des Azokarmins um ein Geringes verändert, so daß man eine Nuance erhält, welche in der Richtung auf die Purpurfarben liegt. Wie diese Beschränkung der Färbbarkeit auf das Bindegewebe bzw. die Präoccupation von Plasma und Kern, zustande kommt, ist im Grunde genommen unerklärlich; aber die Tatsache steht fest. Denn wenn man die Schnitte, ohne sie vorher der P-W-Säure ausgesetzt zu haben in das Anilinblau bringt, so überfärben sie sich sogleich vollständig.

Zieht man die vorher gebeizten Schnitte aus der Farbstofflösung heraus und untersucht sie nach bloßem Abspülen mit destilliertem Wasser mikroskopisch, so findet man allerdings, daß die Plasmaleiber der Zellen einen schwachen blauen Farbenton aufweisen; diese geringen Farbstoffmengen extrahieren sich aber sofort mit Leichtigkeit, wenn die Schnitte behufs Entwässerung den absoluten Alkohol passieren. Die blaue Farbe haftet also nur leicht an den zuvor mit der P-W-Säure behandelten Zellenleibern und nur bei sehr langem Aufenthalt in Anilinblau verstärkt sich allmählich die dauernde blaue Tönung.

In theoretischer Hinsicht wäre vielleicht in Rechnung zu ziehen, daß die P-W-Säure ebenso wie die Phosphormolybdänsäure zu den „Alkaloidreagentien“ gehört und besonders in saurer Lösung eiweißfällend wirkt, vermöge der Amidogruppen, welche in allem Eiweiß enthalten sind. Eine besondere Einwirkung auf die Eiweißkörper der Schnitte wäre also wohl denkbar. Die P-W-Säure fällt aus dem genannten Grunde, abweichend von dem Verhalten anderer Säuren, auch die basischen Anilinfarben (Safranin, Pyronin usw.).

Einzelheiten der Anwendung der P-W-Säure. Die Säure löst sich leicht in Wasser und hält sich absolut gut. Die Konzentration haben wir eine Zeitlang stärker genommen (10 Prozent), sind aber dann definitiv zu einer 5prozentigen Lösung zurückgekehrt. Von dieser halten wir jederzeit eine größere Menge vorrätig, da man beim Extrahieren des Azokarmins die Flüssigkeit der Regel nach einmal wechselt. Beim steten Gebrauch der Standflasche haben wir nun die folgende Beobachtung gemacht. Es bleiben nach dem jeweiligen Ausgießen immer geringe Mengen der Lösung am Mündungsrande der Flasche hängen, welche dort verdunsten, wobei sich die Säure in Form eines weißen, staubartigen, mikrokristallinischen Pulvers ausscheidet. Gießt man das nächste Mal eine neue Quantität aus der Flasche aus, so spült man einen Teil der pulverförmigen Masse herunter und man findet dann später leicht in den Schnitten allerhand feinste kristallinische Körperchen. Man kann dem natürlich entgehen, wenn man den Ausguß der Flasche vor dem jedesmaligen Gebrauche vollständig rein putzt; da es aber nicht ganz leicht ist, die Flasche sauber zu halten, so haben wir es vorgezogen, die vollkommen reine Säure mit Hilfe einer Pipette herauszuheben; die Pipette muß dann nach jedesmaligem Gebrauche mit destilliertem Wasser durchgespült werden.

Die Schnitte können in der P-W-Säure nahezu beliebig lange verweilen, ohne Schaden zu nehmen. Man beobachte die Extraktion des Bindegewebes und unterbreche die Säurewirkung, wenn der gewünschte Effekt erzielt ist. Dies kann $^1/_2$ bis 3 Stunden dauern. Danach spült man die Schnitte kurz in Aqua dest. ab und bringt sie in die Anilinblaulösung.

Über die **Mallorysche Bindegewebsfärbung** habe ich bereits an anderer Stelle (l. c.) einige Mitteilungen gemacht, denen ich nichts wesentlich Neues hinzuzufügen habe. Ich machte damals darauf aufmerksam, daß die Originallösung zu konzentriert ist und daß man sie mit dem gleichen oder dem doppelten Volumen Wassers verdünnen

muß. Der Erfolg ist, daß die Färbung langsamer vor sich geht und daß man nicht mit der Uhr in der Hand daneben zu sitzen braucht, um eine Überfärbung zu verhindern. Man färbt 1 bis 2 bis 3 Stunden lang und kann dann die Präparate definitiv fertigstellen. Beim Entwässern wird, wie oben schon erwähnt, eine ziemliche Menge nicht fest gebundenen Farbstoffes extrahiert; der Rest sitzt aber recht fest. Sollten jedoch die Schnitte im ganzen etwas bläulich geworden sein, was bisweilen vorkommt, so mag man sie nach der Entwässerung noch 5 bis 10 Minuten lang in absolutem Alkohol stehen lassen. Es pflegt sich dann noch ein Minimum der blauen Farbe abzuheben, wodurch die rote Farbe der Kerne und Zelleiber wiederum in frischerem Tone zum Vorschein kommt.

Die Oxalsäure in dem Malloryschen Gemisch kann man gänzlich ohne Schaden durch Essigsäure (8 Prozent) ersetzen. Sie bietet den Vorteil, daß sie unter keinen Umständen das Azokarmin extrahiert, während die oxalsaure Lösung in einzelnen Fällen, namentlich bei Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit, ein wenig von dem Azokarmin abzieht.

Die Anilinblaufärbungen fallen am besten aus nach Fixierungen, die Trichloressigsäure enthalten. Aber auch nach Sublimat und dessen Gemischen ebenso wie nach Zenker erhält man sehr schöne Färbungen. Am schnellsten tingieren sich die kollagenen (fibrillären) Bindegewebsmassen, etwas langsamer die glasartigen Häutchen, welche den feineren Bestandteil des Bindegewebes in so vielen Organen (Muskeln, Drüsen usw.) ausmachen. Hier ist manchmal noch eine gewisse Unsicherheit der Färbung vorhanden, welche mir bisher nicht gelang vollständig zu überwinden.

[Eingegangen am 4. Februar 1916.]

Über eine neue Modifikation zu den Färbungsmethoden von Gliastrukturen.

Von

Eduard Pötter

in Jena.

Hierzu eine Tafel (Tab. IV).

Wohl bei keiner der bisher üblichen Methoden zur Färbung der verschiedensten Elemente des Gehirns bietet die Anwendung derartige Schwierigkeiten, wie bei der von WEIGERT[1]) eingeführten Methode zur Darstellung der Neuroglia. Abhängig von vielen, vom Untersucher meist viel zu wenig gewürdigten Momenten (Härtung usw.), hängt die Erlangung guter Gliapräparate von so verschiedenen Kleinigkeiten ab, daß es für den Färbetechniker ganz selbstverständlich erscheint, neue Wege zu suchen, um eventuell bestehende Methoden auszubauen oder neue Anwendungsformen dem färbetechnischen Rüstzeug anzugliedern. Nur so kann dem Histo- wie Pathologen gedient werden, um möglichst exakt ausgeführte Präparate zu erlangen.

Eine ganze Reihe ausgezeichneter Modifikationen ist im Laufe der letzten Jahre publiziert worden; ich erinnere nur an die Arbeiten von BENDA, RANKE, MERZBACHER u. a. Verschiedene, auch diesen Methoden anhaftende Mängel, zum Teil durch die Beschaffenheit des Materials bedingt — waren die Ursache, daß ich im hirnanatomischen Laboratorium der hiesigen Psychiatrischen Universitätsklinik versuchte, weiter an der Ausgestaltung der Färbemethode zu arbeiten.

Nach fast zweijähriger Zeit der Versuche ist es gelungen, eine weitere brauchbare Modifikation der bisher üblichen Methoden zur Färbung von Gliastrukturen aufzustellen und sie in dieser Arbeit der Öffentlichkeit zu übergeben.

Voraussetzung für das gute Gelingen der Färbung ist in allererster Linie eine gute Konservierung des zu untersuchenden Materials,

[1]) WEIGERT, Beiträge zur Kenntnis der normalen menschlichen Neuroglia. Frankfurt 1895.

und zwar habe ich gefunden, daß ein mit 10prozentiger Formalinlösung gut injiziertes Gehirn in der Gliafärbung selten versagte. Aber auch Schnitte von gutem Alkoholmaterial oder kleine, in Formalin gut gehärtete Blöcke gaben exakte Gliabilder.

Dank dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Prof. Duerck als auch dem derzeitigen Direktor des Pathologischen Institutes der hiesigen Universität, Herrn Prof. Rössle, wurden die benötigten Gehirne bis spätestens 6 Stunden post mortem (einige auch noch frühzeitiger) reichlich mit Formalin (10prozentige Lösung) injiziert und dem hirnanatomischen Laboratorium zur Verfügung gestellt.

Aus diesen Gehirnen, deren Gefäße bis in die Tiefe der Marksubstanz vollständig blutleer und mit Formalin gefüllt waren, wurden die benötigten Stücke in einer Stärke von 3 mm herausgeschnitten und auf weitere 4 Tage einem Härtungsprozeß in 10prozentigem Formalin unterworfen. Niemals ließen sich Schrumpfungsprozesse nachweisen. Nach Ablauf dieser Zeit fand die Einbettung in Paraffin in der allgemeinen üblichen Weise statt: 70prozentiger Alkohol 1 Tag, 80prozentiger Alkohol 1 Tag, 96prozentiger Alkohol 1 Tag, Alkohol absolut. 1 Tag, Xylol bis zum Durchsichtigwerden des Stückes, Benzin-Paraffin (Schmelzpunkt 45°) im Brutofen auf 2 bis 3 Stunden, reines Paraffin (Schmelzpunkt 58 bis 60°) 2 bis 3 Stunden, Ausgießen in Formen.

Von den auf diese Weise eingebetteten Stücken wurden Schnitte von 5 bis 10 μ angefertigt, auf warmes Wasser (35 bis 40° Aqua destillata) ausgebreitet und auf einem mit einem dünnen Kampfer-Eiweiß-Hauch bestrichenen Objektträger aufgefangen, mit feingekörntem Fließpapier abgetupft und im Thermostaten bei 40° getrocknet.

Nachdem die Schnitte in Xylol entparaffiniert, in absolutem Alkohol absteigend bis zu 50prozentigem und nachfolgendem Bade in Aqua destillata vorbehandelt waren, wurden sie auf die Dauer von 4 Tagen in die von Weigert angegebene Chromalaun-Kupferbeize (5prozentigem essigsaurem Kupferoxyd, 5prozentiger gewöhnlicher Essigsäure, $2^1/_2$prozentiges Chromalaun[1]) gebracht.

Die Schnitte bekommen einen leicht grünlichen Schein. Nach der Beizung folgt eine etwa 10 Minuten dauernde Abspülung in mehr-

[1]) Die genaue Kochvorschrift, deren Beachtung unerläßlich, findet sich in Weigert, Beiträge zur Kenntnis der normalen menschlichen Neuroglia. Frankfurt 1895, p. 202.

mals gewechseltem destilliertem Wasser. Dieser Prozedur folgt eine Nachbehandlung der kupfergebeizten Schnitte mit einer Lösung von Metol-Hydrochinon-Agfa (käuflich in jeder Photo-Handlung) 20 ccm auf 80 ccm Aqua destillata auf die Dauer von 2 bis 3 Tagen je nach der Schnittdicke, bei Zimmertemperatur (im Dunkeln!).

Nun folgt die Überführung in den Farbstoff, nachdem die Schnitte 10 Minuten lang gut abgespült waren. Ich verwandte mit gutem Erfolg das bereits von Ranke und Merzbacher in der Färbetechnik benützte Viktoriablau (Grübler) in einer konzentrierten wässerigen Lösung (Farbstoff unter langsamem Erwärmen lösen, dann mindestens 1 Stunde bei kleiner Flamme kochen lassen, um eine stark metachromatische Wirkung des Farbstoffes zu erzielen). Ich will hier bemerken, daß ich auch bei einer Färbung mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von Methylviolett recht gute Präparate erzielt habe, dieses jedoch wegen des länger dauernden Differenzierungsprozesses nicht weiter anwandte.

Die Schnitte bleiben auf die Dauer von 24 bis 72 Stunden (je nach Schnittdicke) bei Zimmertemperatur in der Farbflüssigkeit. Nach dieser Zeit entfernt man den überschüssigen Farbstoff durch behutsames Abtupfen mit feingekörntem Fließpapier, aber nur in der Weise, daß der Schnitt selbst noch einen feuchten Glanz zeigt. Hat man bereits zu stark abgetupft, empfiehlt es sich, den Schnitt noch einmal in die Farblösung zurückzubringen und die Manipulation nochmals vorzunehmen.

Im raschen Anschluß erfolgt das Auftropfen der genugsam bekannten 5prozentigen Jod-Jodkalium-Lösung, die man für einen Moment einwirken läßt.

Bei dem nun folgenden Differenzierungsprozeß ist die größte Aufmerksamkeit erforderlich, da sehr leicht ein gewisses Zuviel erreicht wird.

Aus einer Tropfflasche tropfe man die aus Anilinöl und Xylol im Verhältnis von 1 : 3, bei stärkeren Schnitten 1 : 2 bereitete Differenzierungsflüssigkeit auf den Schnitt. Es findet eine Lösung des Farbstoffes in allen nicht gliösen Elementen statt und es macht sich diese Lösung durch starkes Abgehen von Farbwolken bemerkbar. Bekommt der Schnitt ein helleres Aussehen, empfiehlt sich nach vorherigem gutem Abspülen in Xylol eine Kontrolle unter dem Mikroskop. Bei noch ungenügender Differenzierung wiederhole man das Auftropfen der Differenzierungsflüssigkeit so lange, bis der Untergrund farblos, die Gliafasern dunkelblau sichtbar werden. Vor einem Zuviel hüte man sich, da sehr leicht eine Überdifferenzierung des Schnittes ein-

tritt. Ist diese tatsächlich eingetreten, liegt aber anderseits wertvolles, unersetzliches Material vor, ist eine nochmalige Vornahme der Beize-Färbeprozedur unbedingt zu empfehlen.

An dieser Stelle möchte ich noch darauf hinweisen, daß ganz besonders bei stark gliösem Gehirnmaterial (Gliomen, Gliosarkomen usw.) auf den Differenzierungsprozeß die allergrößte Sorgfalt zu legen ist, da hier meist eine ungenügende Differenzierung vorkommen wird. In solchen Fällen wird man noch immer das Bindegewebe mit gefärbt sehen, da dieses den Farbstoff bis zu vorletzt festhält. In solchen Fällen ist eine Differenzierung mit ganz schwachem Anilinöl-Xylol zu empfehlen. Der Prozeß dauert zwar etwas länger, die sich aber dann ergebenden Bilder sind unbedingt schöner als bei einem raschen Differenzierungsprozeß, wo eben, wie schon oben betont, sehr leicht eine Überdifferenzierung eintritt.

Eine an den Differenzierungsprozeß anschließende ausgiebige Abspülung in Xylol ist dringend anzuraten, um alle eventuell noch vorhandenen Reste von Anilinöl aus dem Schnitt zu beseitigen. Ist die Auswaschung nicht gründlich erfolgt, kann es leicht zu einer Weiterdifferenzierung des Schnittes unter dem Deckglas kommen; solche Schnitte müssen dann aber mit Naturnotwendigkeit abblassen. Das Einschlußmedium ist Kanadabalsam (möglichst säurefreier).

Dieses von mir angewandte Verfahren stellt eine elektive Färbmethode zur Darstellung der verschiedenen Gliastrukturen dar. Die gliösen Bestandteile heben sich in hell- bis dunkelblauem Farbton auf hellem Untergrunde scharf ab. Ganglienzellen erhalten eine leicht graugrünliche Färbung, Achsenzylinder werden nicht mit dargestellt. Ganz besonders zum Nachweis pathologisch vermehrter Glia ist die Anwendung der vorstehenden Methode zu empfehlen. In scharfer Zeichnung kommen aber auch die Spinnenzellen mit ihren zum Teil vielgestaltigen Ausläufern zur Darstellung.

Was nun die Haltbarkeit der Schnitte anbetrifft, bemerke ich, daß Schnitte, die zu Projektionen als auch zu mikrophotographischen Aufnahmen bei einer Lichtquelle von 25 Ampère benutzt wurden, dann aber längere Zeit auch dem Tageslicht ausgesetzt waren, nicht eine Spur ihrer Färbung eingebüßt haben, und es scheint darin auch ein Moment der Brauchbarkeit der Methode zu liegen, da ja bekanntlich bei verschiedenen anderen Methoden über das schnelle Abblassen der Schnitte lebhaft Klage geführt wird.

Ich füge dieser Arbeit zwei mikrophotographische Aufnahmen bei, aus denen ersichtlich wird, in welcher Weise die Glia sicher

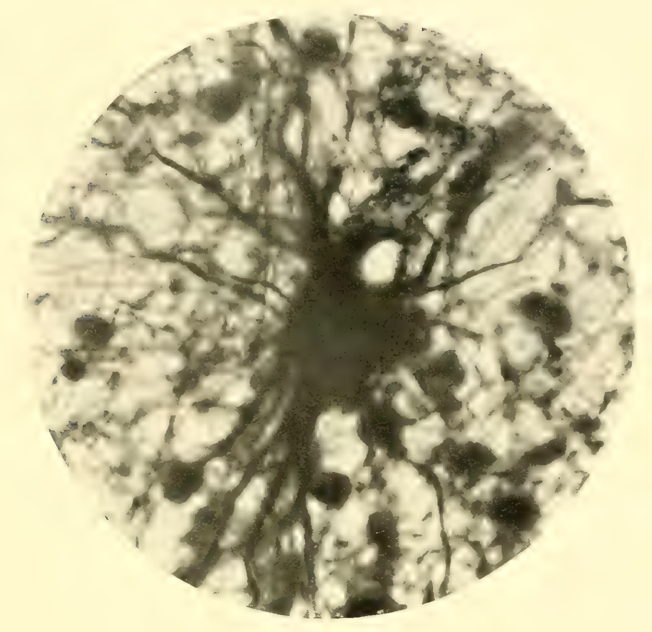


Fig. 1.

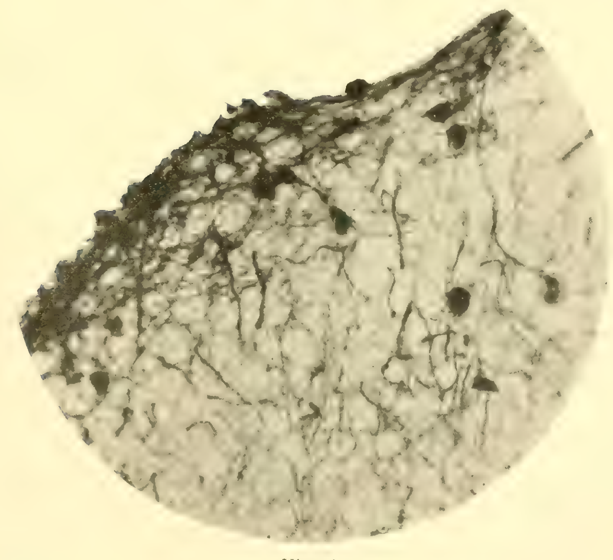


Fig. 2.

Pötter phot.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



zur Darstellung gebracht worden ist. Es ist aber von vornherein darauf hinzuweisen, daß ein Mikrophotogramm nur eine schwache Wiedergabe der wirklichen Verhältnisse sein kann, da bei Verwendung von Immersionsobjektiven immer nur die in einer Höhe sich befindenden Fasern im photographischen Bilde scharf zur Darstellung gebracht werden können. Aus diesem Grunde habe ich mich auf die Wiedergabe von zwei mikrophotographischen Aufnahmen beschränkt, und zwar zeigt Abbildung 1 eine Riesenspinnenzelle mit zahlreichen derberen, feineren und feinsten Ausläufern in einem alten enzephalitischen Herde. Der Block entstammt dem Gehirn eines 10jährigen Knaben, bei dem sich bereits mehrere Jahre vorher enzephalitische Prozesse im Ponsteil der Medulla oblongata abgespielt hatten.

Abbildung 2 zeigt die Randgliose in einem Falle von Epilepsie (für die von Binswanger die Bezeichnung „Alzheimersche Randgliose" festgelegt wurde[1]) bei einem 20jährigen Mädchen. Das zu bearbeitende Stück wurde der zweiten Stirnwindung entnommen. Die Glia stellt sich als ein aus derberen und feineren Fasern gebildetes dichtes Flechtwerk dar, dessen einzelne derbere Gliabalken sich bis in die Schicht der kleinen Pyramiden hinein erstrecken.

Bemerken will ich noch, daß ich bei der Herstellung der Mikrophotographien homogene Ölimmersion, Apertur 1·30 und Projektionsokular 4 benützte. Als Lichtquelle diente eine Bogenlampe von 25 Ampère. Belichtungszeit bei halbem Balgauszug unter Verwendung des Zettnow-Filters, kleiner Blende und Silber-Eosinplatten nach Vogel-Obernetter (Perutz-München) 7 Sekunden. Die Abbildungen stellen eine genaue Wiedergabe der Aufnahme ohne Retusche dar.

Über die Verwendbarkeit der mitgeteilten Methode resp. einzelner notwendig werdender Abänderungen zur Darstellung der fötalen Glia werde ich demnächst berichten.

Fassen wir die Methode kurz zusammen, so ergeben sich folgende Zeiten für die einzelnen Prozeduren:

1) Injektion des Cerebrums mit 10prozentigem Formalin von der Carotis aus, und zwar sobald als irgend möglich.
2) Nachhärtung des zu untersuchenden Gehirnstückchens in 10prozentigem Formalin auf 4 Tage.
3) Einbettung nach entsprechender Vorbehandlung in Paraffin, Schneiden, Aufkleben, Trocknen, Entparaffinieren, Alkohol

[1]) Binswanger, Die klinische Stellung der sogenannten „genuinen" Epilepsie (Zeitschr. f. Psychiatrie u. Neurol. Bd. 32. 1912, p. 369—381).

absolut. absteigend bis 50prozentigem Alkohol, Aqua destillata.

4) Beizung des aufgeklebten Schnittes in Weigerts Chromalaun-Kupferbeize im Brutofen bei 40° C = 4 Tage.

5) Nach gründlichem Abspülen in Aqua destillata Überführung der Schnitte in eine Lösung von Agfa-Metol-Hydrochinon, 20 cc in 80 cc Aqua destillata auf 2 bis 3 Tage bei Zimmertemperatur (im Dunkeln!).

6) Aufgießen des Farbstoffes (konzentriertes wässeriges Viktoriablau Grübler, siehe Kochvorschrift) 24 bis 72 Stunden, je nach Schnittdicke.

7) Abtupfen mit feingekörntem Fließpapier und Auftropfen einer 5prozentigen Jod-Jodkaliumlösung (momentan). Abtrocknen (ein feuchter Glanz muß zurückbleiben).

8) Differenzierung mittels Auftropfens von Anilinöl-Xylol 1:3, eventuell 1:2 (Kontrolle des Differenzierungsprozesses unter dem Mikroskop). Mehrfaches Abspülen in Xylol.

9) Gründliches Abspülen in mehrfach gewechseltem Xylol und Einbettung in möglichst säurefreien Kanadabalsam.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Binswanger für das der vorliegenden Arbeit jederzeit betätigte große Interesse bestens zu danken. Ebenso ist es mir Bedürfnis, meiner Schülerin Frl. Dressel für ihre unermüdliche Mitarbeit bei den angestellten Versuchen auch an dieser Stelle dankbarst zu gedenken.

[Eingegangen am 26. Januar 1916.]

[Aus dem pathologischen Institut der Akademie für praktische Medizin zu Düsseldorf.]

Histologische und chemische Untersuchungen über Chromoform (Methylformindichromat) als Fixationsmittel.

Von

Hellmuth Simons, cand. zool.
in Düsseldorf.

I. Histologischer Teil und Technik.

Bei vielen Histologen und speziell pathologischen Anatomen erfreut sich die von Orth (8) angegebene Fixationsflüssigkeit, ein Gemisch von 100 Teilen Müllerscher Flüssigkeit und 10 Teilen Formol, besonderer Beliebtheit, vornehmlich bei Studien über das Zentralnervensystem. Herxheimer (5) gibt bei fast allen Organsystemen die Orthsche Flüssigkeit neben Formol, Müllerscher Flüssigkeit oder Sublimat an. Schon rein theoretisch konnte man bei einer solchen Kombination wie der Orthschen Flüssigkeit ein günstiges Resultat erwarten, da die eine Komponente, die Müllersche Flüssigkeit, bei ihrem Gehalt an chromsaurem Salz ausgezeichnet die Form des Zellplasmas konserviert, eine Eigenschaft, die von Tellyesniczky (12) und von von Wasielewski (13) als zytologische Hauptbedeutung der chromsauren Salze erkannt und ausdrücklich betont worden ist. Die andere Komponente, das Formol, ergibt, wie sich Reimar (10) geäußert hat, eine homogene oder sehr feinkörnige Gerinnung mit bester Formerhaltung. Nun hat leider aber die Orthsche Flüssigkeit den Nachteil, daß sie nicht lange haltbar ist; so geben Aschoff (1) und Gaylord (1) sowie Beitzke (2) an, „daß die Lösung sich in wenigen Tagen zersetzt" respektiv „sich Niederschläge in ihr bilden". Es ist nun Herrn Dr. K. B. Schmitz, Fabrik pharmazeutisch-chemischer Präparate in Breslau VII., Höfchenstraße 50, gelungen, eine organische Verbindung herzustellen, die in ihrem Molekül die wesentlichen Bestand-

teile der Orthschen Flüssigkeit, nämlich chromsaures Salz und Formol enthält und den Vorteil hat, sich in wässeriger Lösung sehr lange, beinahe unbegrenzt zu halten. Wie ich einer freundlichen brieflichen Mitteilung von Herrn Dr. Schmitz entnehme, handelt es sich um ein Methylformindichromat $(C_7H_{15}N_4)_2Cr_2O_7$ von folgender Konstitution:

Das Methylformindichromat bildet orangerote Kristallnadeln und ist in kaltem Wasser zu 2 bis 3 Prozent löslich. Von dem Formaldehydgehalt der bei gewöhnlicher Temperatur völlig geruchlosen Lösung kann man sich durch Erhitzen bis zum Sieden leicht durch den dabei auftretenden stechenden Formaldehydgeruch überzeugen. Das Formaldehyd kann als solches noch an der Schwärzung eines mit Silbernitratlösung getränkten Filtrierpapierstreifens erkannt werden. Das trockene Salz, das im Handel den patentamtlich geschützten Namen „Chromoform. pur.“ tragen wird, muß vor Licht geschützt aufbewahrt werden; die wässerige Lösung soll in dunkelbrauner Flasche gut verschlossen vorrätig gehalten werden. Für die Fixation ist die 2,5prozentige Lösung am geeignetsten, die man durch Auflösung des Salzes in destilliertem Wasser von höchstens 20 bis 25° C herstellt. Der nach mehrmaligem Umschütteln eventuell noch verbleibende Rückstand ungelösten Chromoforms kann, wenn man will, abfiltriert werden, nötig ist es aber nicht. Höhere Temperaturen als 40° C oder gar kochendes Wasser sind unbedingt zu vermeiden, da sonst wirksames Formaldehyd gasförmig entweicht. Man kommt, ähnlich wie bei

Formol, mit 150 bis 200 cc Flüssigkeit pro Sektion, wenn man Organstücke von der üblichen Größe einlegt, aus. Kleinere Organstücke sind schon nach 5 bis 6 Stunden genug fixiert, größere Organstücke benötigen 24 Stunden oder mehr, es schadet aber nicht im geringsten, wenn man die Lösung mehrere Tage, ja selbst bis zu 2 Wochen einwirken läßt. Längere Dauerkonservierung ist nicht möglich; man muß die fixierten Objekte nach dem Wässern (siehe weiter unten) in 70prozentigem Alkohol aufheben, den man ab und zu erneuert. Alle Organe mit Ausnahme von Gehirn und Rückenmark, für die etwa 37 bis 40° C die optimale Fixationstemperatur ist, werden bei Zimmertemperatur gehärtet. Die Objekte werden lange nicht so hart wie in Formol oder Sublimat; sie bleiben verhältnismäßig weich und geschmeidig. Man darf die Fixationslösung nur bei kleinen Organstücken zweimal benutzen. Will man besonders weiche Organe, z. B. Gehirn oder Rückenmarkstückchen, für das weitere Einbettungsverfahren oder für die makroskopische Untersuchung zerschneiden, so geschieht das am besten erst, wenn die Stücke in 70prozentigem Alkohol liegen. Zur weiteren Verarbeitung für Paraffinschnitte kommen die Organe aus der Fixationslösung 2 bis 4 Stunden in fließendes Wasser und dann in steigenden Alkohol (70-, 96-, 100-prozentig), dann in Xylol und Paraffin. Der Aufenthalt in Paraffin richtet sich wie auch sonst nach der Durchlässigkeit und Größe der Objekte. Die auf diese Weise vorbehandelten Objekte ergeben eine vorzüglich schneidbare Konsistenz. Bezüglich der Anwendbarkeit des Chromoforms möchte ich ausdrücklich betonen, daß es nur für die Zwecke des pathologischen Anatomen sehr gute Dienste leistet, dagegen für den feineren histologischen Bau doch die Sublimat, Chromosmiumsäure und freies Formol enthaltenden Gemische, wie sie meist die normalen Anatomen verwenden, an erster Stelle stehen. Der Vorteil des Chromoforms liegt in seiner Haltbarkeit und vor allen Dingen darin, daß es bei einigen für den Pathologen wichtigen Methoden wesentliche Vereinfachungen erlaubt, auf die ich noch weiter unten zu sprechen kommen werde, so bei der Fixierung des chromaffinen Systems sowie bezüglich der Methodik bei der Fibrinfärbung, der Bielschowskyschen Silberimprägnation und der Weigertschen Markscheidenfärbung. Mit Ausnahme der Biondi-Heidenhain- und Bestschen Glykogenfärbung sind sämtliche wichtigen normalen und pathologischen Färbungsmethoden möglich, wie: Heidenhains Eisenhämatoxylin in Kombination mit Lichtgrün und Bordeaux R, Weigerts Eisenhämatoxylin in Kombination mit van Giesonschem Pikrofuchsin und Eosin, Bendasche

Safranin-Lichtgrün-Kontrastfärbung, DELAFIELDS Hämatoxylin, Alaun- und Boraxkarmin, die BIELSCHOWSKYsche Silberimprägnation der Bindegewebsfibrillen (nicht die der Neurofibrillen), die WEIGERTsche Färbung der elastischen Fasern, ferner von speziell pathologischen Färbemethoden die Tuberkelbazillenfärbung mit ZIEHL-NEELSENschem Karbolfuchsin und Gegenfärbung durch LÖFFLERsches Methylenblau, Färbung der Diphtheriebazillen nach NEISSER, Schleimfärbung mit Muzikarmin, WEIGERTsche Fibrin- und Bakterienfärbung, Amyloidfärbung mit Methylviolett, die PAPPENHEIM-UNNAsche Methylgrün-Pyroninmethode, UNNAsches polychromes Methylenblau, EHRLICHsche Triazidfärbung sowie schließlich die Berlinerblaureaktion auf Ferrisalze.

Bevor ich jetzt dazu übergehe, kurz den histologischen Wert des Chromoforms bezüglich der verschiedenen Organsysteme und der dabei auftretenden Färbungseffekte zu besprechen, möchte ich es nicht versäumen, Herrn Professor MÖNCKEBERG für mancherlei gute Ratschläge und genaue Kontrolle und Begutachtung der mikroskopischen Präparate sowie Überlassung des menschlichen Leichenmaterials meinen besten Dank auszusprechen; ebenso bin ich an dieser Stelle Herrn Professor JANSSEN, der mir völlig lebensfrisches, menschliches Operationsmaterial zur Verfügung stellte, zu großem Danke verpflichtet.

Herz- und Skelettmuskulatur.

Man erhält bei Leichenmaterial sehr gute Bilder der Querstreifung und fibrillären Struktur des Muskels; die Querstreifung wird am besten mit der HEIDENHAINschen Eisenhämatoxylinmethode und Gegenfärbung mit Lichtgrün oder Bordeaux R dargestellt. Auf diese Weise ist die Q-Membran außerordentlich scharf sichtbar, auch die Z-Membran ist hinreichend deutlich. Die fibrilläre Struktur ist am besten mit DELAFIELDS Hämatoxylin und Eosin als Gegenfärbung darzustellen. Bei quergestreifter wie glatter Muskulatur ist die Kernfixierung sehr klar. Überaus deutlich ist bei Längsschnitten der Herzmuskelfasern die Kernmembran gegen den um den Kern herum liegenden nicht fibrillär differenzierten Teil des Sarkoplasmas abgegrenzt. Gerade beim Herzmuskel werden sich etwaige Degenerationsprozesse infolge dieser günstigen Fixierung sehr gut verfolgen lassen. Bei der Darstellung der Fibrillen möchte ich auch die BIELSCHOWSKIsche Silberimprägnation in der von mir bei der Leber noch anzugebenden Modifikation nicht unerwähnt lassen. Gerade diese

Modifikation ergibt auch für das Studium der Kittlinien der Herzmuskelfasern sehr scharfe Bilder. Man kann so die gute, aber ziemlich umständliche Darstellungsmethode der Kittlinien von Cohn (3) in einfacher Weise ersetzen.

Lunge.

Die Lunge wird sehr gut fixiert, insbesondere lassen sich die Organstücke vorzüglich schneiden. Für 29 Stunden altes menschliches Leichenmaterial ist die vorzügliche Erhaltung des Flimmerepithels der Bronchien erwähnenswert und beweist die schonenden Konservierungseigenschaften des Chromoforms. Der Trachealknorpel ist gut erhalten, die Knorpelzellen sind kaum merklich geschrumpft, und die Grundsubstanz erscheint vollkommen homogen, während die kollagenen Fibrillen im Sinne Hansens (4) typisch stark basophil maskiert werden.

Niere.

Bei der Niere habe ich mittels der Weigertschen Fibrinmethode eine recht schöne Bakterienfärbung eines septischen Kokkeninfarktes erhalten. In diesem Falle wie auch bei anderen Organen, wo ich nach der Methode Weigerts und Gegenfärbung mit Mayers Alkohol-Karmin das Fibrin darstellte, z. B. bei einer Diphtheriemembran, bei fibrinöser Pneumonie und hochgradiger Stauungsleber, tritt der Färbungseffekt absolut sicher ein. Es ist eine wesentliche Arbeitsersparnis bei dieser Fibrinmethode, wenn man, wie das Herxheimer (5) berechtigterweise für die Fixierung in den bisher üblichen Chromsalzlösungen vorschreibt, nicht mehr erst in Kaliumpermanganat zu oxydieren und in Oxalsäure zu reduzieren braucht.

Leber.

Die Leber, die ich sowohl an menschlichem Leichenmaterial als auch an frischem Mäuse- und Kaninchenmaterial untersuchte, wurde durchweg einwandfrei fixiert; besonders die Kerne der Leberzellen sind recht gut in ihrer Form und in ihrer Chromatinverteilung erhalten. Es ist mir gelungen, bei der Bindegewebsdarstellung der Leber eine insofern neuartige Modifikation der Bielschowskyschen

Silberimprägnation der Bindegewebsfibrillen zu schaffen, als ich den ganzen Versilberungs- und Reduktionsprozeß erst an Paraffinschnitten ausgeführt habe, was gerade bei der Leber wundervolle Bilder der intra- und interlobulären Fibrillen, der sogenannten Gitterfasern, ergab. Irgendwelche störende Silberniederschläge waren nur spurenweise bemerklich. Die Versilberung an Paraffinschnitten hat den großen Vorteil, daß man eventuell Serienschnitte mit ganz klaren Bildern erhalten kann, während bei der früher üblichen Methode der Versilberung und Reduktion der Objekte in toto sehr häufig dichte Silberniederschläge auftraten, so daß nur Schnitte aus einer gewissen Tiefe des Objektes wirklich tadellos waren. Die neue Methode, die sich auch für die Bindegewebsfibrillenimprägnation sämtlicher in Betracht kommenden Organe eignet und eine wesentliche Zeitersparnis mit sich bringt, ist folgende:

2 bis 3tägige Fixation, steigender Alkohol, Paraffineinbettung. Möglichst dünne Schnitte, etwa 5 bis 7 μ dick.

1) Entparaffinieren, absteigender Alkohol,
2) $^1/_4$ Stunde fließend wässern,
3) sorgfältiges Abspritzen mit destilliertem Wasser,
4) 2prozentige Silbernitratlösung auf 24 Stunden im Dunkeln,
5) rasches Durchziehen durch destilliertes Wasser,
6) ammoniakalische Silbernitratlösung (siehe Bielschowskys Originalmethode in den Lehrbüchern der mikroskopischen Technik) auf 5 bis 30 Minuten,
7) rasches Durchziehen durch destilliertes Wasser,
8) Reduktion in Formol (um störende Silberniederschläge zu vermeiden, empfehle ich, nur eine 10prozentige Formollösung zu verwenden).

Alles andere, auch die Nachvergoldung wie bei der Originalmethode. Es darf natürlich keine Essigsäuredifferenzierung vorgenommen werden, auch das Goldbad darf nicht angesäuert sein. Die Schnitte bleiben eine halbe Stunde in dem Goldbad.

Blut und blutbildende Organe.

Die zelligen Elemente des Blutes und der blutbildenden Organe, speziell des Knochenmarkes werden nach der Pappenheim-Unnaschen Triazidmethode bei Verwendung von Chromoform zufriedenstellend konserviert. Auch die gebräuchlichen Hämatoxylingemische ließen in

Kombination mit Eosin die recht brauchbare Fixation, insbesondere der Leukozyten erkennen. Die Malpighischen Körperchen der Milz und die in den Maschen ihres Retikulums liegenden Zellarten sowie die der roten Pulpa, z. B. beim Kaninchen die Eosinophilen, sind sehr gut fixiert. Die flach zylindrischen Stabzellen der Sinusmembran sind mit ihrem ins Retikulum sich vorbuchtenden Körper gut dargestellt.

Gefäßsystem.

Bei Studien über pathologische Veränderungen des Gefäßsystemes gibt die Weigertsche Färbung der elastischen Fasern prachtvoll scharfe histologische Bilder, da Arterien sowohl wie Venen sehr gut fixiert werden.

Magen und Darmkanal.

Bei der histologischen Untersuchung des gesamten Verdauungstraktus kann ich das Chromoform sehr empfehlen. Selten schöne Bilder erhielt ich bei Schnitten durch die Fundusgegend der Magenschleimhaut des Kaninchens, wo sich an Längs- und Querschnitten durch die Fundusdrüsen die Lage und Anordnung der Haupt- und Belegzellen sehr gut demonstrieren ließ. Am besten fand ich die Hämatoxylin-(Delafield-)Eosinfärbung, bei der das Plasma der Belegzellen intensiv rot hervorleuchtend dargestellt wird; die von der Schleimhaut leicht abgehobene Muskularis zeigt wie in allen übrigen Teilen des Darmrohres recht gut fixierte Kerne der glatten Muskelfasern. Im Duodenum ist der zentrale Zottenlymphraum, das Zottenepithel mit seinen bei Mucikarminfärbung sehr gut färbbaren Schleimzellen recht gut fixiert. Besonders schöne Bilder lieferte der Processus vermiformis, wo sich pathologische Veränderungen, wie Degeneration und Atrophie der Solitärfollikel, Obliteration des Lumens und drohende Perforation, ganz vorzüglich darstellten.

Drüsen mit innerer Sekretion.

1. a) Thyreoidea und Thymus.

Kolloidzellen und Kolloid der Thyreoidea sind zufriedenstellend fixiert; das Kolloid erscheint aber, wie bei anderen Fixationsmitteln

auch, im histologischen Präparat von den sezernierenden Epithelzellen mehr oder weniger retrahiert. Die HASSALschen Körperchen der Thymus und die übrige Marksubstanz sind samt der Rinde bestens konserviert. Der lappige Aufbau der normalen Thymus ist klar erkennbar.

1. b) Hypophysis.

Hämatoxylin-(DELAFIELD-)Eosinfärbung stellt mit großer Schärfe die drei Zellarten des drüsigen Teiles der Hypophysis dar. Die Hauptzellen zeigen ihr typisch schwach färbbares Protoplasma, die azidophilen Zellen mit ihrer sehr dichten, die basophilen Zellen mit ihrer mehr groben Granulation sind gut voneinander zu unterscheiden. Die an der Grenze der beiden Hypophysenlappen befindliche Gruppe hohler Epithelschläuche tritt mit ihrem kolloidartigen Inhalt recht deutlich hervor. Sehr schön sind auch die Blutkapillaren und das Blut fixiert. Färbung mit Säurefuchsin-Methylenblau liefert gute Bilder der fuchsinophilen Granulationen.

2. Chromaffines System.

a) Nebenniere.

Man kann bei der Nebenniere nach Chromoformfixierung die chromaffinen Zellen sowohl nach der WIESELschen Methode mit Safranin-Toluidinblau oder nach SCHMORL und THOMAS mit verdünnter GIEMSA-Lösung ganz ausgezeichnet elektiv färben. WIESEL (14) hat ein dem ORTHschen Gemisch sehr nahe stehendes Kaliumbichromatformol bei der Darstellung des chromaffinen Apparates empfohlen und chromiert nochmal vor dem Entwässern einige Tage in Kaliumbichromat nach; diese Postchromierung fällt bei Verwendung des Chromoforms vollständig fort, da seine starke Chromaffinität zur Nebennierenmarksubstanz allein genügt, die bekannten Färbungseffekte hervorzurufen, allerdings mit geringen Variationen, was in gleicher Weise von der GIEMSA-Färbung nach SCHMORL und THOMAS, siehe HERXHEIMER (5), gilt. Es sind nämlich hier bei der WIESELschen Färbung die Kerne der chromaffinen Zellen dunkelrotgelb, Plasma hellgelbgrün, das übrige Zellplasma rötlich violett, Kerne dunkelrot. Bei der SCHMORL-THOMASschen-Methode, die ich für bedeutend einfacher und sicherer halte, und die auch noch schönere Bilder ergibt als die WIESELsche, ist der Färbungseffekt: Kerne der chromaffinen

Zellen dunkelblaugrün, chromaffines Zellplasma gelbgrün, das übrige Zellplasma rosarot, Kerne blau. Die multipolaren, sympathischen Ganglienzellen und deren Kerne treten schon bei schwacher Vergrößerung deutlich in der Marksubstanz hervor.

b) Karotidendrüse.

Auch bei der Darstellung der chromaffinen Elemente der Karotidendrüse leistet das Chromoform vorzügliche Dienste. Mönckeberg (7) fand, „daß bei dem Wieselschen wie auch Kohnschen (6) Gemisch vereinzelt Schrumpfungen vorkommen, während die Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit tadellos ist, aber keine Gelbfärbung der chromaffinen Zellen eintritt, was auch schon Poll hervorgehoben hat". Fixiert man z. B. Kaninchenmaterial gleich nach dem Tode noch lebenswarm mit Chromoform, so erhält man mit verdünnter Giemsa-Färbung dieselben Färbungseffekte, wie ich sie eben für die Nebenniere geschildert habe.

Urogenitalsystem.

a) Ureter, Hoden, Nebenhoden und Samenstrang.

Das Übergangsepithel des Ureters war bei menschlichem, 19 Stunden alten Leichenmaterial stellenweise sehr gut erhalten, soweit es die starke postmortale Mazeration des Epithels zuließ. Die Zellen im Stratum proprium, die Muskelkerne der inneren Längsmuskel- und äußeren Ringmuskelschicht sowie die Faserhaut waren gut konserviert. Der Hoden hat ganz besonders schöne Fixationsresultate ergeben. Man darf gerade den günstigen Ausfall der Hodenfixation hier recht hoch veranschlagen. Von Tellyesniczky (11) hat den Hoden geradezu als Testobjekt für die Untersuchung und kritische Prüfung eines Fixationsmittels bezeichnet, weil die Spermatozoen, Spermatogonien, Spermatozyten und Spermatiden auf die geringsten deformativen Einwirkungen in sehr feiner und sicherer Weise reagieren. Ferner lassen die Mitosen der Spermatogonien und Spermatozyten entscheidende Schlüsse auf die Art der Fixierung der Archoplasmastrahlung zu. Zum Studium der Deformationswirkung bei Spermatozoen benutzte ich ein Stück Meerschweinchenhoden. Den Hoden legte ich in der von Regaud (9) angegebenen Weise in situ bis auf die Albu-

ginea frei und injizierte dann mit einer Pravaz-Spritze vorsichtig 0·5 cc Chromoformlösung, ließ diese 1 Minute einwirken und trug dann die Albuginea in einem Umfang von etwa der Fläche eines Zweipfennigstückes ab. Den in dieser Weise vorbereiteten Hoden ließ ich 17 Stunden durchfixieren. Nach 2stündigem Wässern übertrug ich in 70prozentigen Alkohol und untersuchte etwas aus dem Ductus deferens hervorgepreßtes Sperma. Die kelchförmigen Spermatozoenköpfe waren tadellos erhalten, ebenso die Mittelstücke und Schwänze. Zur Untersuchung des histologischen Bildes, speziell der Mitosen der Geschlechtszellen, benutzte ich den Hoden einer weißen Maus. Es zeigte sich hier, daß man, um brauchbare Fixierung zu erhalten, der Chromoformlösung unbedingt 3 Prozent Eisessig zusetzen muß; diese Flüssigkeit steht also der Tellyesniczkyschen Bichromatessigsäure sehr nahe. Kontrollversuche ohne Essigsäurezusatz ergaben ganz unbrauchbare Bilder. Schnitte durch mit Eisessig-Chromoformlösung etwa 17 Stunden fixierte Hoden ergaben dagegen sehr schöne Bilder der Mitosen, der Spermatogonien und Spermatozyten; die Archoplasmastrahlung war ausgezeichnet erhalten, ebenso deren polare Konvergenz; die Chromosomen stellten sich auf Flächenansichten und Querschnitten durch die Äquatorialplatte sehr scharf fixiert dar. Auch die übrigen histologischen Elemente des Hodens waren befriedigend fixiert. Die Sertolischen Zellen zeigten den typischen ovoiden Kern mit deutlichem Nukleolus. Die interstitiellen Zellen waren auch recht brauchbar fixiert.

Ein ähnliches Beispiel hierfür liefert der Nebenhoden, wo ich das mehrzeilige Flimmerepithel des Ductus epididymidis noch an 48 Stunden altem menschlichen Leichenmaterial nachweisen konnte: die Büschel der Flimmerhaare waren allerdings verklebt, jedoch ist das nach Angaben von Szymonowicz und Krause (Lehrbuch der Histologie) an allen fixierten Präparaten stets der Fall.

Das mehrzeilige Epithel des Samenstranges ist gut erhalten, nur sind bei Leichenmaterial infolge der postmortalen Mazeration die Flimmerhaare nur noch äußerst spärlich sichtbar. Sehr gut sind, wie bei zahlreichen anderen Organen schon erwähnt, die Kerne der Ring- und Längsmuskulatur dargestellt.

b) Tube, Ovarium und Uterus.

Das Flimmerepithel der Tubenschleimhaut war bei 19 Stunden altem menschlichen Leichenmaterial ausgezeichnet erhalten. Ferner

waren die Bindegewebskerne sehr gut konserviert. Die WEIGERT-VAN-GIESONsche Färbung ergab sehr klare Bilder der Bindegewebsfibrillen und ihrer Verteilung. Sagittalschnitte des Ovariums vom gleichen Material wie eben ließen in der Rinde sehr gut alle Stadien der Follikelbildung verfolgen. In dem Liquor folliculi waren stellenweise noch sehr schön die Reste der zu Epithelvakuolen degenerierten Follikelzellen erhalten. Das Ovarialstroma machte bezüglich der Struktur der Kerne und Bindegewebsfibrillen einen gut fixierten Eindruck. Mit der VAN GIESONschen Methode stellten sich die feinsten Bindegewebsfäserchen, welche die Kornzellen der Tunica interna thecae folliculi trennen, sehr scharf dar. In der Marksubstanz des Ovariums waren die Gefäße und das Blut in gleicher Weise wie bei der Tube sehr gut erhalten. Prachtvolle Bilder des gesamten Ovarialbindegewebes ergab die Modifikation der BIELSCHOWSKYschen Silberimprägnation in der bei der Leber oben besprochenen Weise.

Die Zellkerne der glatten Muskelfasern des Uterus wurden ausgezeichnet konserviert. Das zylindrische Flimmerepithel der Schleimhaut und der Uterindrüsen war in für Leichenmaterial noch als sehr gut zu bezeichnender Weise dargestellt.

Nervensystem.

a) Großhirn.

Die Fixierung nicht zu großer Großhirnstücke ergibt sehr zufriedenstellende Bilder bei Hämatoxylin-(DELAFIELD-)Eosin und VAN GIESON-Präparaten. Bei den Meningen ist besonders die gute Darstellung der Pia mater hervorzuheben, was für Untersuchungen über Meningitis günstig in Betracht kommt. Die protoplasmatische Substanz der Rinde und des Markes sind nicht mehr geschrumpft als bei Formolpräparaten auch. Die mehr oder minder ausgeprägten Hohlraumbildungen, welche die Schrumpfung veranlassen, hängen nur von der zwischen Todeseintritt und Fixation verstrichenen Zeit ab. Die Pyramidenzellen sind ihrer Form nach gut erhalten; ihre protoplasmatischen Ausläufer lassen sich weithin verfolgen, und der Kern zeigt eine scharf abgesetzte Membran. Die Gliakerne haben ihre typisch rundliche Gestalt.

Die Markscheidenpräparate nach WEIGERT und die KULSCHITZKYsche Modifikation werden jedoch mit den bisher üblichen Fixationsmitteln, vor allen Dingen Formol, besser. Gehirne in toto in Chromoform zu fixieren, ist nicht angängig.

b) Kleinhirn.

Ganz vorzüglich lassen sich im Kleinhirn die Purkinjeschen Zellen darstellen. Die Dendriten und ihre feineren Verzweigungen sind mit gewöhnlichen Hämatoxylin-Eosin-Färbungen bis weit in das Stratum cinereum hinein sehr scharf sichtbar. Die Körnerschicht hebt sich recht deutlich von dem Markstrahl ab. Auch beim Kleinhirn gelingen die Markscheidenmethoden besser nach Formolfixation.

c) Rückenmark.

Die Figur der grauen Substanz ist stets deutlich gegen die weiße Substanz abgesetzt. Die multipolaren Ganglienzellen sind sehr schön fixiert, ihre protoplasmatischen Ausläufer sind auf größere Strecken zu verfolgen. Der Kern besitzt die typische scharf abgesetzte Membran und großen Nukleolus. Man kann gut beobachten, wie von dieser Membran aus die Chromatinbälkchen und -stränge radiär nach innen strahlen. Die Querschnitte der Nervenfasern zeigen den Achsenzylinder bei Leichenmaterial nicht mehr als bei Anwendung von Formol geschrumpft. Dieses eben beschriebene Übersichtsbild des Rückenmarkes erzeugen am besten Hämatoxylin-Eosin-Färbungen. Das Tigroid läßt sich mit Pappenheim-Unnaschem Karbol-Methylgrün-Pyronin in sehr guter Weise darstellen (nach Mülberger, Grundzüge der pathologisch-histologischen Technik). Das Tigroid wird dabei leuchtend rot. Die Markscheidenfärbung, speziell die Kulschitzkysche Modifikation, gelingt hier recht gut. Die Markscheiden werden tief blauschwarz.

d) Periphere Nerven und Ganglien.

Querschnitte peripherer Nerven ergeben nach Chromoformfixierung recht gute Bilder bei Weigert-van Giesonscher Färbung, wobei hauptsächlich das Endoneurium und die Endoneuralscheide scharf hervortreten. Die Kulschitzkysche Markscheidenmethode gelingt hier ganz besonders gut, wie ich an menschlichem N. opticus feststellen konnte. Die Gliazellen und das Bindegewebe heben sich durch ihren braunschwarzen bzw. gelblichen Farbenton von der tief blauschwarz gefärbten Markscheide ab, die Ranvierschen Schnürringe sind gut sichtbar, ebenso stellenweise auch die Schmitt-Lantermannschen Einkerbungen.

Über die Fixation der peripheren sympathischen Ganglienzellen habe ich weiter oben bei der Nebenniere schon berichtet.

Haut.

Die Haut (Fußsohle) zeigt mit ihren Schweißdrüsengängen und Talgdrüsen (Kopfhaut) sehr schöne Epithelfixierung; ebenso sind auf Schnitten durch die Mundhöhlenschleimhaut die Plattenepithelien ganz tadellos fixiert. Die Meissnerschen Körperchen sind sehr gut zu erkennen. Prächtige Bilder ergibt die Färbung der elastischen Fasern mit Resorcin-Fuchsin nach Weigert.

Geschwülste, Tuberkelbazillen-, Diphteriebazillen-, Plasmazellen- und Fibrinfärbung.

In hervorragender Weise geeignet erweist sich Chromoform bei der histologischen Untersuchung der verschiedensten Tumoren. Karzinommetastasen, z. B. in der Leber, ein Carcinoma medullare solidum der Blase (lebensfrisches Operationsmaterial) und ein Spindelzellensarkom mit vereinzelt eingestreuten Riesenzellen ergaben schöne Resultate. Bei dem Sarkom waren außerdem eingelagerte Pigmentschollen gut sichtbar. Lebenswarm fixiertes Operationsmaterial einer Hautwarze ergab mit der Weigert-van Gieson-Methode hervorragende Bilder des Epithels, der Naevuszellen und der Talgdrüsen.

Die Tuberkelbazillenfärbung gelingt mit Karbol-Fuchsin (Ziehl-Neelsen) und Methylenblau (Löffler) ebensogut wie mit Formol auch. Das gleiche gilt von der Diphtheriebazillenfärbung nach Neisser, wobei in einer Diphtheriemembran die beiden Polkörperchen der Bazillen klar zu sehen waren. Man färbt Paraffinschnitte am besten 30 Sekunden in Neisser I, gießt die Lösung dann ab und spült sie mit Neisser II herunter, bis alle blaue Lösung verschwunden ist, darauf läßt man die Lösung II noch etwa 40 Sekunden einwirken. Dann wird mit Fließpapier getrocknet, kurz durch die Flamme gezogen, um sicher zu sein, daß alles Wasser entfernt ist und schließlich unter einem Deckgläschen in Immersionsöl eingeschlossen. Bei einem Amputationsneurom (lebensfrisches Operationsmaterial) stellte die Pappenheim-Unnasche Karbol-Methylgrün-Pyroninmethode das Plasma der Plasmazellen leuchtend tiefrot dar; die Radspeichenstruktur des Kerns und sein perinukleärer, heller Hof traten dabei deutlich hervor.

Über die Fibrinfärbung habe ich weiter oben bei der Niere schon ausführlicher berichtet.

Zusammenfassung.

Überblicken wir jetzt noch einmal kurz die Ergebnisse der Fixierung mit Chromoform, so können wir sagen:

1) daß ihm ganz allgemein eine recht befriedigende Kernfixation zukommt,

2) daß es sich bei Muskeln und vorwiegend muskulösen Organen ganz vorzüglich zu sehr guten Übersichtsbildern der fibrillären Querstreifung eignet,

3) daß alle Geschwülste, besonders solche, die vorwiegend aus Bindesubstanz aufgebaut sind, sehr gute histologische Bilder ergeben.

4) Beim Nervensystem ist die Fixation der Purkinjeschen Zellen im Kleinhirn und der multipolaren Ganglienzellen der grauen Rückenmarksubstanz bemerkenswert.

5) Das chromaffine System der Nebenniere und Karotidendrüse läßt sich, möglichst schnelle Fixierung post mortem vorausgesetzt, mit einigen Vereinfachungen der früheren Methoden unschwer darstellen.

6) Die Fibrinfärbung gelingt absolut sicher ohne Anwendung der Oxydations- und Reduktionsmethode. Das Fibrin wird leuchtend hellblau dargestellt.

7) Die Bielschowskysche Silberimprägnation der Bindegewebsfibrillen, der Gitterfasern und der Kittlinien der Herzmuskulatur ist, wie ich bei der Leber gezeigt habe, in viel weniger zeitraubender, aber trotzdem sicherer Weise an unvorbehandelten Paraffinschnitten möglich.

Somit hat die vorliegende mikrotechnische Studie ergeben, daß Chromoform, ohne etwa die altbewährten Fixationsmittel, wie Formol, Sublimat, Müllersche und Zenkersche Flüssigkeit überflüssig zu machen, die Zahl wirklich guter Konservierungsflüssigkeiten für pathologische Zwecke in schätzenswerter Weise bereichert und das Orthsche Gemisch voll ersetzt, zumal ihm eine unbegrenzte Haltbarkeit zugesprochen werden muß, und es im Gegensatz zu Formol und der Orthschen Mischung wegen seiner völligen Geruchlosigkeit die Schleimhäute in keiner Weise reizt.

Literatur zum I. Teil.

1) ASCHOFF u. GAYLORD, Kursus der pathologischen Histologie. Wiesbaden 1900.
2) BEITZKE, H., Taschenbuch der pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. Leipzig 1907.
3) COHN, A., Zur Frage der Kittlinien der Herzmuskulatur (Verh. d. deutsch. path. Ges. 1909).
4) HANSEN, Anat. Anzeiger **15** u. **16**, 1899.
5) HERXHEIMER, Technik der pathologisch-histologischen Untersuchungen. Wiesbaden 1912.
6) KOHN, Bau und Entwicklung der sogenannten Carotisdrüse (Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. **56**, 1900).
7) MÖNCKEBERG, Die Tumoren der Glandula carotica (ZIEGLERS Beitr. d. path. Anat., Bd. **38**, 1905).
8) ORTH, Berliner klin. Wochenschr. 1896.
9) REGAUD, Arch. d'Anat. Micr. vol. 4, 1901.
10) REIMAR, Fortschr. d. Med. Bd. **12**, 1894.
11) VON TELLYESNICZKY, Enzykl. d. mikr. Techn. Bd. **1**, 1903, p. 383.
12) VON TELLYESNICZKY, Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. 52, 1898.
13) VON WASIELEWSKI, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **16**, 1899.
14) WIESEL, Über die Entwicklung der Nebenniere des Schweines, besonders der Marksubstanz (Anat. Hefte, 1900).

[Eingegangen am 30. März 1916.]

---

2. Chemischer Teil

wird in einigen Monaten erscheinen.

(Schluß des ersten Teiles.)

Beziehungen zwischen numerischer Apertur und Brennweite der Mikroskopobjektive.

Von

Prof. Dr. W. Scheffer
in Berlin-Wilmersdorf.

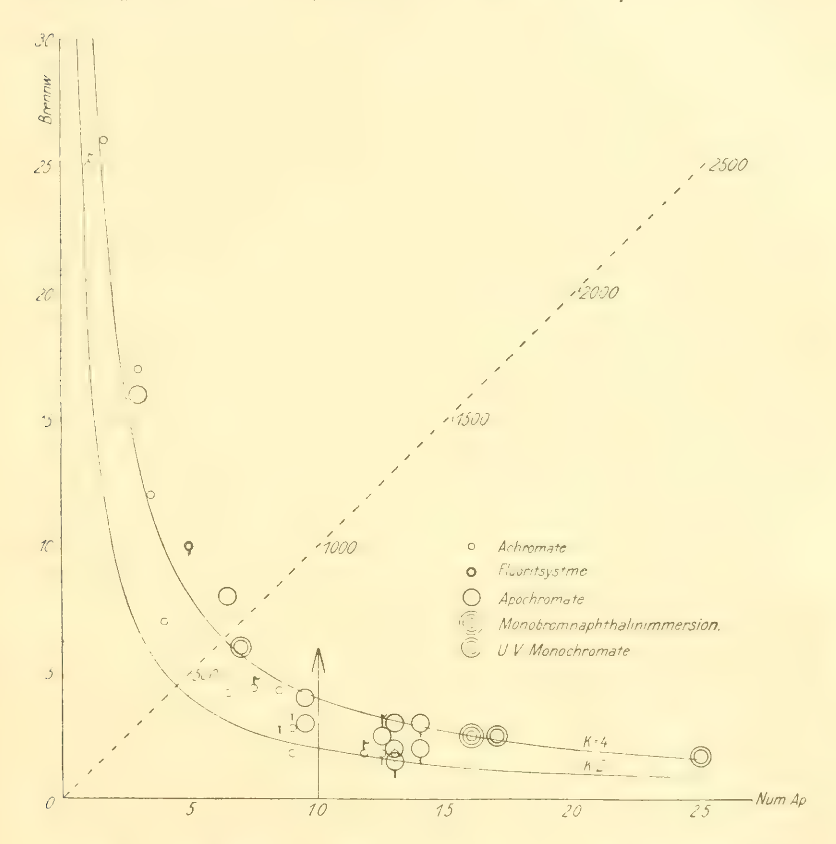
Hierzu eine Textabbildung.

Die Beziehungen zwischen der numerischen Apertur eines Mikroskopobjektives und der mit ihm erreichbaren größten förderlichen Vergrößerung sind gegeben einerseits durch die Formeln $d = \lambda / A$ für gerade Beleuchtung und $d = \lambda / 2A$ für schiefe, anderseits durch eine physiologische Konstante des menschlichen Auges, nämlich den kleinsten Winkel, unter dem man noch den Abstand zweier getrennter Strukturelemente wahrnehmen kann. Der maximale Grenzwert der förderlichen Vergrößerung beträgt das 500- bis 1000fache der numerischen Apertur.

Über die Beziehungen der Brennweite zur numerischen Apertur und der Vergrößerung ist hierdurch noch nichts gesagt.

Erfahrungen und Erwägungen technischer Art, die zumeist in das Gebiet der geometrischen Optik gehören, haben dazu geführt, daß man für höhere Vergrößerungen kürzere Brennweiten benutzt. Man könnte den Ausführungsmaßstab eines Mikroskopobjektives, selbst wenn das technisch möglich wäre, nicht beliebig verkleinern. Der beugende Rand der kleinsten Öffnung im Objektiv ist ein lineares Gebilde, die Objektivöffnung ist eine Fläche; der erstere ändert sich also direkt proportional dem Ausführungsmaßstab, die letztere direkt proportional der zweiten Potenz desselben. Die durch Beugung an dem besagten Öffnungsrand der punktuellen Abbildung verloren gegangene Lichtmenge wächst also bei der Verkleinerung des Ausführungsmaßstabes sehr rasch, verglichen mit dem ungestört durch die freie Öffnung zum Bildpunkt gelangenden Anteil. Die kürzesten Brennweiten, die zurzeit die wichtigsten Kataloge mikroskopischer Objektive aufweisen, betragen 1·4 bis 2 mm.

Man könnte theoretisch die Brennweite noch kürzer machen, technische Erfahrungen haben aber gelehrt, daß noch kürzere Brennweiten keinen Fortschritt ergeben. Wie aus der graphischen Darstellung hervorgeht, hat das Objektiv von 1·5 mm Brennweite denen von 2 mm gegenüber keine Vorteile, ja man hat sogar mit 2 mm größere numerische Aperturen erreicht, als mit 1·5 mm.



In der graphischen Darstellung Figur 1 sind die Mikroskopobjektive der bekanntesten optischen Werkstätten zusammengestellt. Die Ordinaten bedeuten Brennweiten, die Abszissen numerische Aperturen. Es ist also aus derselben die Abhängigkeit der besagten beiden Größen voneinander zu ersehen.

Die lineare Vergrößerung ist umgekehrt proportional der Brennweite, die förderliche Vergrößerung ist direkt proportional der numerischen Apertur. Man kann also leicht zu einem System von Mikro-

skopobjektiven kommen, bei dem das Produkt aus numerischer Apertur und Brennweite konstant ist; f · num. Ap. = Konst. Wenn in diesem Sinne die eine Größe als Funktion der anderen graphisch dargestellt wird, bekommt man als Abbild der Funktion eine gleichseitige Hyperbel. In Figur 1 ist diese Konstante einmal gleich zwei, das andere Mal gleich vier gesetzt. Die beiden Hyperbeln sind ausgezogen und die verschiedenen Objektive durch Kreise an ihrem Ort angedeutet. Man sieht, daß die tatsächlichen Systeme dieser Annahme ungefähr entsprechen. In Figur 1 sind die Achromate, Apochromate und Monochromate für ultraviolettes Licht eingetragen, die letzteren mit ihrer „relativen numerischen Apertur".

Die Monochromate liegen fast genau auf der Hyperbel für $K = 4$, die anderen Objektive zeigen deutlich, daß auch ihr System nicht allzuweit von der Hyperbel entfernt ist. Allerdings ist bei den Achromaten und Apochromaten eine gewisse Neigung vorhanden, von der gleichseitigen Hyperbel etwas abzuweichen, namentlich den größeren Brennweiten eine etwas höhere Apertur zu geben, und den größten Aperturen eine etwas längere Brennweite, als es das System verlangt.

Die erstere Maßnahme hat augenscheinlich den Zweck, daß man mit Objektiven von längerer Brennweite möglichst auch höhere förderliche Vergrößerungen mit starken Okularen erreichen kann.

Daß man den größten Aperturen eine etwas längere Brennweite gibt, hat technische Gründe.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß das Produkt K aus numerischer Apertur und Brennweite einen Anhalt für die Beurteilung und Zusammenstellung einer Serie von Objekten gibt. Je größer K, desto größer ist bei gleicher Brennweite die numerische Apertur und das Auflösungsvermögen, bei gleicher numerischer Apertur die Brennweite. Man kann nun — wiederum aus technischen Gründen — einer gegebenen Brennweite durchaus nicht jede beliebige, in den theoretisch möglichen Grenzen liegende numerische Apertur geben. Wenn das mit gutem Erfolge möglich wäre, könnte man in gewissem Sinne an ein Universal-Mikroskopobjektiv denken, das etwa eine große Brennweite und eine große numerische Apertur hätte. Die große Brennweite würde mit schwachen Okularen schwache Vergrößerungen ergeben, und die große Apertur würde die Anwendung sehr starker Okularvergrößerungen erlauben, eine genügend gute Bildschärfe vorausgesetzt. Ein Schritt in dieser Richtung ist von verschiedenen optischen Werkstätten beim Apochromaten $f = 8$ mm und der numerischen Apertur 0·65 gemacht worden. Die Größe K erreicht hier

den sehr hohen Wert von 5·2 und es sind Linearvergrößerungen in den Grenzen von 60fach bis 600fach zu bekommen, ohne daß man den Wert der förderlichen Vergrößerung überschreitet.

Ähnliches leistet ein auch in dieser Darstellung vermerktes Fluoritobjektiv von 10 mm Brennweite und der num. Ap. 0·50, das Herr Winkel in Göttingen auf meine Anregung hergestellt hat.

Es ist als homogene Immersion ausgeführt und hat also den grundsätzlichen Vorteil des kleineren Öffnungswinkels und der kleineren Eintrittspupille bei gleicher numerischer Apertur vor den Trockenobjektiven voraus. Hierdurch wird die Herstellung einer besseren Bildschärfe als bei Trockenobjektiven gleicher Apertur möglich, und die Schärfentiefe, das heißt, der Bereich der über oder unter der Einstellebene liegenden noch deutlich abgebildeten Objektebenen, wird größer. Das liegt im Wesen der Immersionen, verglichen mit den Trockenobjektiven.

Der Bereich der Vergrößerungen liegt bei diesem Objektiv zwischen den Werten 50 und 500. Bei den letzteren ist noch eine durchaus befriedigende Bildschärfe vorhanden, so daß sowohl Übersichtsbilder wie auch bakteriologische Präparate mit diesem Objektiv untersucht werden können. Bei derartigen Objektiven sollte man beim Gebrauch schwacher Okulare die Kondensor-Iris soweit zuziehen, daß nur etwa das mittlere Drittel der Objektivöffnung mit direktem Licht erfüllt ist. Bei der Anwendung stärkster Okulare sollte eben gerade die ganze Objektivöffnung mit direktem Licht erfüllt sein.

Auch die optische Werkstätte von E. Leitz in Wetzlar hat bereits vor vielen Jahren eine ähnliche Immersion für den verstorbenen Herrn Geheimrat F. Weigert hergestellt. Ich hatte vor ungefähr 15 Jahren Gelegenheit, mit diesem Objektiv zu arbeiten, und ich erinnere mich noch lebhaft der vorzüglichen Bilder, die ich mit demselben bekam.

Soweit ich mich erinnere, stand es der eben beschriebenen 10 mm-Immersion von R. Winkel in Göttingen nahe.

Wenn man die üblichen Vergrößerungstabellen durchsieht, findet man, besonders bei den stärkeren Objektiven in Verbindung mit den stärkeren Okularen, Vergrößerungszahlen, die zum Teil weit über den Betrag der förderlichen Vergrößerung hinausgehen und bereits im Gebiet der leeren Vergrößerung liegen. Das hat nur für die Mikrophotographie und die Mikroprojektion eine Berechtigung und außerdem für Beobachter mit verminderter Sehschärfe, bei denen der Grenzwert des angularen Wertes derselben unnormal groß ist.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die Konstante K einen theoretischen Schluß auf die mit einem gegebenen Objektiv zulässige maximale Vergrößerung und somit auch auf den Bereich der mit ihm herstellbaren verschiedenen Vergrößerungen zuläßt, denn je stärker das stärkste noch anwendbare Okular, desto größer ist der Bereich.

Aus Figur 1 sehen wir, daß die Objektive der Kurve $K = 4$ bei gleicher Brennweite die doppelte numerische Apertur haben, als die der Kurve $K = 2$. Sie lassen also auch eine doppelt so starke Okularvergrößerung zu, eine genügend gute Bildschärfe vorausgesetzt.

Diesen Vorteilen der Kurve mit der größeren Konstanten stehen aber gewisse Nachteile gegenüber.

Je größer die num. Ap. im Verhältnis zur Brennweite wird, desto schwerer ist das Objektiv zu rechnen und auszuführen, desto mehr werden gewisse Fehler der Abbildung, sowohl punktuelle wie auch perspektivische, störend bemerkbar.

Außerdem wächst die Schwierigkeit seines Gebrauches; die Empfindlichkeit der stärkeren Trockenobjektive gegen Schwankungen der Deckglasdicke und der Tubuslänge nimmt zu und die Schärfentiefe wird geringer. Wenn man die num. Ap. und das Auflösungsvermögen durch die Anwendung besonders kurzwelligen Lichtes erhöht, werden die beiden zuletzt aufgeführten Erscheinungen geringer, besonders die Abnahme der Schärfentiefe.

Den zweifellosen theoretischen und praktischen Fortschritten verschiedener Art, die in der Gruppe der Objektive nahe der Kurve $K = 4$ verwirklicht sind, stehen gewisse praktische Unbequemlichkeiten gegenüber. Wenn es sich um ganz besonders hohes Auflösungsvermögen und stärkste Vergrößerungen handelt, etwa um die direkte oder durch die Photographie vermittelte Wahrnehmung feinster Diatomeenstrukturen oder ähnlicher Gebilde, muß man diese Unbequemlichkeiten mit in Kauf nehmen. Es gibt aber eine große Mehrheit mikroskopischer Arbeiten und Aufgaben, bei denen es gar nicht darauf ankommt, das Auflösungsvermögen bis zur letzten Grenze zu steigern, bei denen vielmehr eine gute Bildschärfe, besonders eine gute Ebnung und möglichst große Ausdehnung des Bildfeldes und eine große Schärfentiefe von größerer Bedeutung sind, als besonders hohe numerische Aperturen. Die meisten Aufgaben der Histologie in der Medizin, der Zoologie, der Botanik, der Mineralogie und vieler anderer Gebiete, besonders auch der Technik, gehören hierher. Diese Wünsche und Anforderungen lassen sich aber mit Objektiven, die in der Nähe der Kurve $K = 2$ liegen, besser erfüllen.

Es ist ohne weiteres klar, daß es sich hier um schwache und mittlere Vergrößerungen handelt, das heißt um das Gebiet des aufrechten Astes der Kurve links von dem Pfeil, der das Gebiet der Immersionen von dem der Trockenobjektive scheidet. (Hierdurch soll aber durchaus nicht gesagt sein, daß links von dem Pfeil Immersionen keine Berechtigung hätten. Ich verweise auf das oben über langbrennweitige Immersionen von kleiner Apertur Gesagte.)

Die Objektive dieser Reihe lassen theoretisch noch eine 8fache Okularvergrößerung als maximale förderliche zu, und praktische Versuche und Erfahrungen haben gezeigt, daß man die theoretischen Werte unbedenklich bei gut korrigierten Objektiven erreichen darf. Man hätte also in jedem Objektiv dieser Reihe ein Bereich verschiedener Vergrößerungen, die sich wie 1 : 4 verhalten, wenn man als schwächste eine 2fache Okularvergrößerung annimmt.

Nach dem hier Gesagten kann man eine Reihe von Objektiven und Okularen zusammenstellen, die allen Anforderungen der praktischen Mikroskopie entspricht und dazu noch in gewissem Sinne Vorteile in den schwachen und mittleren Vergrößerungen aufweist.

Brennweite der Objektive	num. Ap.	Vergrößerung mit Okular: 2	4	8	10	16
15 mm	0·13	33	66	130	160	260
5 „	0·4	100	200	400	500	800
2 „	1·3	250	500	1000	1250	2000
–	1·4	–	–	—	–	—

Die Kennzahlen der Okulare sollen hier die Vergrößerungszahl der Okularvergrößerung bedeuten.

Mit Okular 8 wird bei den Trockenobjektiven, und mit Okular 10 bei Immersionen die Grenze der förderlichen Vergrößerung ungefähr erreicht. Die Erfahrung lehrt, daß man bei der subjektiven Beobachtung kaum jemals eine 1000fache Linearvergrößerung zu überschreiten hat. Die Kataloge der meisten optischen Werkstätten enthalten die Bemerkung, daß man im allgemeinen die stärksten Okulare nicht mit den kürzesten Brennweiten benutzen sollte.

Eine wertvolle Ergänzung dieser Reihe würde eine Ölimmersion von etwa 10 mm Brennweite und der numerischen Apertur 0·5 darstellen, wie sie in der graphischen Darstellung vermerkt ist.

In der hier wiedergegebenen Tabelle haben die Objektive von langer Brennweite eine wesentlich geringere numerische Apertur, als

das im allgemeinen bisher üblich war. Man könnte also sogar in gewissem Sinne von einem Rückschritt sprechen.

Demgegenüber ist aber zu sagen, daß die den langen Brennweiten zugeordneten numerischen Aperturen durchaus genügen und befriedigende Okularvergrößerungen zulassen, wie die Tabelle zeigt. Die höchsten Aperturen fehlen in der Tabelle durchaus nicht, die Aperturen sind nur zweckmäßiger auf die Brennweiten verteilt und diese günstig abgestuft.

Es ist sogar unzweckmäßig, die numerische Apertur eines Mikroskop-Objektives, besonders eines von mittlerer oder langer Brennweite, über das unbedingt Nötige hinaus zu vergrößern. Bei den stärksten Objektiven kommt es vor allem auf das Auflösungsvermögen an, das heißt, man will an einem kleinen Objekt von ganz geringer Winkelausdehnung die letzten überhaupt darstellbaren Feinheiten sichtbar machen, und die Erfüllung dieser Hauptbedingung geht allem anderen vor. Ganz anders liegt die Sache bei den schwachen Trockenobjektiven mit langer Brennweite.

Sie sollen Übersichtsbilder geben, die möglichst über das ganze Sehfeld hin gleichmäßig scharf und verzeichnungsfrei sind. Diese Bedingung ist aber mit kleineren Aperturen viel leichter zu erfüllen, als mit größeren und eine gewisse Zunahme der Apertur macht die Erfüllung dieser Bedingung unverhältnismäßig viel schwerer, so daß der Gewinn durch Vergrößerung der Apertur über das unbedingt Nötige hinaus bei den längeren Brennweiten in keinem Verhältnis steht zu den Nachteilen, die hierbei mit in Kauf genommen werden müssen.

Man wird also aus technischen Gründen, wenn man bei der Kurve $K = 2$ bleiben will, im Gebiet der Immersionen rechts vom Pfeil etwas nach oben von der Kurve abweichen, im Gebiet der Trockenobjektve dagegen sich an dieselbe halten. Wenn man links vom Pfeil Immersionen anwenden will, kann man entsprechend dem kleineren Öffnungswinkel derselben größere numerische Aperturen anwenden ohne auf die besagten Vorteile zu verzichten. Im allgemeinen wird man dann auch hier den Ölimmersionen den Vorzug geben, schon der Unempfindlichkeit wegen, die sie gegen Schwankungen der Deckglasdicke haben und wegen des verhältnismäßig kleinen Öffnungswinkels und der hieraus folgenden größeren Schärfentiefe.

[Eingegangen am 5. Februar 1916.]

Ein neues Färbegestell für bakteriologische Präparate[1].

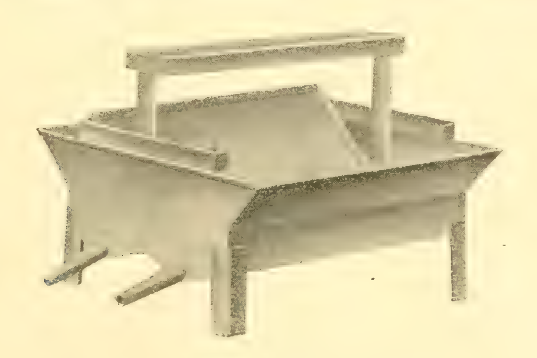
Von

Fritz Lux

z. Z. Landau (Pfalz).

Hierzu eine Textabbildung.

Durch meine derzeitige Tätigkeit an einer bakteriologischen Untersuchungsanstalt, in welcher ständig große Serien von Material nach verschiedenen Färbemethoden zu bearbeiten sind, hatte ich reichlich Gelegenheit, die Mißstände und Unannehmlichkeiten, die sich beim Arbeiten mit den gebräuchlichen Färbegestellen zeigen, kennen zu lernen. Außer dem Beschmutzen der Kleidung durch Heraus-



spritzen von Farblösungen und Spülflüssigkeiten aus der Sammelschale und dem störenden Entleeren der Schalen kommt wesentlich auch der starke Verbrauch von Alkohol in Betracht, der, mit der wässerigen Spülflüssigkeit vermengt, die Wiedergewinnung nicht lohnt und daher weggegossen wird, was vom ökonomischen Standpunkt der Anstaltenetats aus keineswegs gleichgültig ist.

[1]) Das Luxsche Färbgestell, D. R. G. Musterschutz, D. R. P. angemeldet, ist von der Firma Friedrich Lux in Ludwigshafen am Rhein zu beziehen.

Zur Abhilfe ließ ich das beistehend abgebildete Färbegestell anfertigen.

Unter dem für das Auflegen der Präparate bestimmten Gestell befindet sich ein aus zwei getrennten Kammern bestehender Behälter; die beiden Kammern sind mit je einem etwa 1 cm vom Boden abstehenden Sieb und mit je einem Ablaufstutzen versehen und werden mittels zweier Gummischläuche, die durch Löcher in der Tischplatte führen können, selbsttätig in die unter dem Färbetisch aufgestellten Gefäße entleert. Auf der die beiden Kammern trennenden Wand ist eine umklappbare Scheidewand aufgesetzt. Je nachdem man mit alkoholischer oder wässeriger Flüssigkeit arbeitet, wird die Scheidewand nach der einen oder anderen Seite umgelegt, wodurch die betreffenden Flüssigkeiten dann in den zugehörigen Gefäßen aufgefangen werden.

Die in den Kammern befindlichen Siebe belegt man zweckmäßig mit etwas Baumwollstoff oder Watte, um ein Spritzen völlig zu verhindern.

Der aufgefangene Spülalkohol wird, sofern er sauer reagiert (z. B. salzsaurer Alkohol aus der Tuberkelbazillenfärbung), mit kaustischem Kali oder Natron neutralisiert und im Wasserbad abdestilliert, wodurch man wieder einen 90- bis 93prozentigen Alkohol erhält.

Ich habe durch die Verwendung des beschriebenen Färbegestells erreicht, daß die monatliche Alkoholneubeschaffung von etwa 45 Liter auf 10 Liter herabgegangen ist; das bedeutet aber bei den heutigen Preisen eine jährliche Ersparnis von rund 1800 Mark.

[Eingegangen am 21. März 1916.]

Referate.

1. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Bělař, R., Protozoënstudien. II. (Arch. f. Protistenkde. Bd. **36**, 1916, p. 241—302 m. 5 Figg. u. 9 Tfln.).

Zunächst beschäftigt sich Verf. mit Bau und Teilung von Monocercomonas orthopterorum. Das Material wurde gelegentlich einer Untersuchung der parasitischen Protozoën des Küchenschabendarmes in ziemlich großen Mengen zusammen mit Lophomonas blattarum, L. striata, Myctotherus ovalis und verschiedenen Nematoden (Oxyuris-Arten) gefunden. Die Untersuchungen wurden hauptsächlich an Präparaten ausgeführt, die in der allgemein gebräuchlichen Weise feucht mit Sublimat oder Flemmings Gemisch fixiert und mit Hämalaun-Eosin, Giemsa-Lösung, hauptsächlich aber mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt waren.

Weiter gibt Verf. Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von Trypanoplasma helicis. Das Untersuchungsmaterial wurde fast ausschließlich von Helix pomatia gewonnen. Das Receptaculum seminis dieser Schnecke enthält eine hartteigige Masse von gelbbrauner Farbe, von der kleine Partien mit physiologischer Kochsalzlösung vermischt und teils zur Lebendbetrachtung, teils zu Präparaten verwendet wurden. Zur Fixation wurde Sublimat-Eisessig, Sublimat-Alkohol nach Schaudinn, Flemmings starkes Gemisch und Hermannsche Flüssigkeit verwendet. Die drei ersteren Mittel gaben gleich gute Resultate; die schärfsten Bilder bei Eisenhämatoxylinfärbung (nach der alten Methode, die Lithionhämatoxylinfärbung zeigte sich wenig brauchbar) lieferte jedoch die Hermannsche Flüssigkeit. Als Kontrollfärbungen wurden Hämalaun-Eosin, Giemsa-Lösung, Methylgrün-Fuchsin, Safranin-Lichtgrün und Säurefuchsin-Orange G-Anilinblau-Molybdän-

säure nach MALLORY herangezogen. Vitalfärbung mit Neutralrot leistet keine besonderen Dienste, ebenso wie Schnittpräparate durch in toto fixierte Receptacula.

Im letzten Abschnitt berichtet Verf. über Schlundtapete, Trichocysten, Geißelinsertion, Kernbau und Kernteilung von Chilomonas paramaecium. Das Untersuchungsmaterial wurde aus Tümpelwasser gezüchtet. Zunächst trat immer Anthophysa vegetans in großer Menge auf, um bald den sich rapid vermehrenden Chilomonaden zu weichen. Sodann ließ sich die Kultur leicht bis zu 8 Wochen erhalten, wenn nur für rechtzeitigen Zusatz frischen Leitungswassers gesorgt wurde. Nebenher wurde noch Züchtung auf Amöbenagar versucht. Fixiert wurde mit Sublimat-Alkohol, Sublimat-Eisessig, FLEMMINGscher Flüssigkeit, gefärbt mit Eisenhämatoxylin, Hämalaun-Orange, Methylgrün-Fuchsin, BIONDIS Gemisch, GIEMSAS Lösung und Safranin-Lichtgrün. Nach Ansicht des Verf. hat die GIEMSA-Methode vor der Eisenhämatoxylinmethode zwar das voraus, daß sie wahrscheinlich zum großen Teil auf chemischen Vorgängen beruht, ist jedoch keine Methode, die allein ein abschließendes Urteil über die Verteilung von Chromatin und Achromatin resp. Plastin erlaubt; es ist jedenfalls ratsam, die Anilin-Doppel- und Dreifachfärbungen und die heterogenen Farbgemische (FISCHER), die in der Metazoëncytologie so vorzügliche Dienste geleistet haben, in ausgedehnterem Maße zu verwenden. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Schmidt, G., Blutgefäßsystem und Mantelhöhle der Weinbergschnecke [Helix pomatia] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **115**, 1916, p. 201—261 m. 36 Figg.).

Die für die Untersuchung notwendigen Tiere wurden teils in abgekochtem Wasser, teils durch subkutane Einspritzung einer 2prozentigen Kokaïnlösung abgetötet. Letzteres Verfahren bietet entschieden Vorteil vor dem ersteren. Die Objekte sind sofort gebrauchsfähig und zeigen nicht die namentlich beim Konservieren unangenehmen Quellungen, die beim Ersticken in Wasser auftreten. Ein weiterer und für die vorliegenden Untersuchungen nicht unwesentlicher Vorteil ist bei der Kokaïneinspritzung noch der, daß der ganze Körper ziemlich gleichmäßig erschlafft und so für die Injektion des Gefäßsystems verhältnismäßig gut geeignet wird. Immerhin boten sich aber auch hier noch, wegen der großen Kontraktionsfähigkeit der Schnecken, mancherlei Schwierigkeiten und nur selten gelang eine Injektion derart, daß alle Organe gleichmäßig von derselben betroffen waren. Es wurden deshalb zur Vergleichung und gegenseitigen Ergänzung immer mehrere Objekte gleichzeitig injiziert. Als Injektionsmassen wurden je nach Bedarf verschieden dicke Gelatinelösungen, die mit Karmin, Chromgelb, Berliner Blau oder andern geeigneten Substanzen versetzt waren, benutzt. Zur Präparation der größeren Gefäße genügt das unbewaffnete Auge, bei den kleineren ist aber die Anwendung eines

Binokulars zu empfehlen, wenn nicht unbedingt notwendig. Dort, wo die Gefäße in dichterem Gewebe wie z. B. der Muskulatur verlaufen, ist die Verfolgung zuweilen recht schwierig und Mazeration mit Kalilauge kaum zu umgehen. Die Untersuchung des venösen Systems geschah hauptsächlich an dicken Rasiermesserschnitten, die sich nach erfolgter Injektion und Härtung in Formol leicht herstellen lassen. Um hierbei das Auseinanderfallen der einzelnen Organstücke zu verhindern, wurden die vorhandenen Hohlräume vor der Herstellung jedes Schnittes mit Gelatinelösung ausgegossen. Die in einigen Fällen notwendige Fixierung erfolgte mittels Zenkerscher Flüssigkeit. Die dann in Paraffin eingebetteten Objekte wurden zu 5 bis 15 μ dicken Mikrotomschnitten verarbeitet und mit Hämatoxylin-Eosin oder Methylenblau gefärbt. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

Weisensee, H., Die Geschlechtsverhältnisse und der Geschlechtsapparat bei Anodonta (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **115**, 1916, p. 262—235 m. 27 Figg.).

Zur makroskopischen Untersuchung wurden die Muscheln zunächst in eine $1^1/_2$- bis 2prozentige Lösung von Hydroxylamin-Hydrochlorid gebracht, nachdem die Schalen durch zwischengeschobene Korkstückchen auseinandergezwängt waren. Nach etwa 3 bis 4 Stunden tritt bei dieser Behandlung eine vollkommene Erschlaffung der Tiere ein, der größte Teil der Geschlechtsprodukte ist entleert und der Fuß ganz ausgestreckt. Die so vorbereiteten Objekte wurden weiterhin mit einer 5- bis 7prozentigen Formaldehydlösung behandelt, und zwar mindestens 2 Tage lang. Dann sind sie zur Präparation und zur Herstellung von Rasiermesserschnitten gewöhnlich gut brauchbar. Die Präparation ist am frischen Tier wegen der außerordentlich leichten Zerreißbarkeit der Acini fast unmöglich. Diese Zerreißbarkeit ist auch der Grund, weshalb die Ausführung von Injektionen in den Genitalapparat sehr schwierig ist. Zudem macht die oft erhebliche Menge der darin enthaltenen Geschlechtsprodukte das Eindringen der Injektionsmasse fast ganz unmöglich. Die Vornahme von Injektionen erwies sich schließlich aber auch als unnötig, da die durch das Formol gehärteten Geschlechtsprodukte in den Acini die Injektionsmasse sehr wohl ersetzen konnten.

Da die Untersuchung des Geschlechtsapparates an den so präparierten ausgewachsenen Tieren aber nicht genügt, um Aufschluß über die feineren morphologischen Einzelheiten, besonders über die Lage des Ausführungsganges zu erhalten, mußten auch noch junge Tiere herangezogen und Schnittserien studiert werden. Als besonders brauchbar erwiesen sich dabei Rekonstruktionsbilder. Aus einer geeigneten Schnittserie wurde von jedem zweiten Schnitt — diese hatten eine Dicke von 10 μ — eine Zeichnung hergestellt. Durch Aufeinanderlegen und Durchpausen, wobei bei den Querschnittserien der quergetroffene Enddarm und bei den Sagittalschnitten die untere

Wand des Bojanusschen Organs als Orientierungszeichen dienten, konnte dann eine einigermaßen genaue Rekonstruktion des genannten Ganges angefertigt werden. Die etwas mühsame Arbeit der Herstellung der vielen Einzelbilder läßt sich durch Anwendung eines Projektionsapparates wesentlich erleichtern. Wenn ein solcher nicht zur Verfügung steht, läßt er sich mit relativ einfachen Mitteln leicht improvisieren. Die vom Verf. benutzte Einrichtung und Anordnung war folgende: Als Lichtquelle diente eine Leitzsche 4 Amp. Handregulier-Bogenlampe. Die daraus austretenden Strahlen sind durch eine am Lichtschutz angebrachte Konvexlinse parallel gemacht. Zur Kühlung nimmt man ein genügend großes, von planparallelen Platten begrenztes Wassergefäß. Es ist nun eine zweifache Anordnung der Apparatur möglich. 1) Die gekühlten parallelen Lichtstrahlen werden durch eine Konvexlinse konvergent gemacht und in den Kondensor des umgelegten Mikroskopes geworfen. Das vom Okular erzeugte Bild des mikroskopischen Präparates wird nun durch einen unter 45° gegen die Horizontale geneigten Planspiegel nach oben geworfen. Über dem Spiegel befindet sich ein Tisch, in dessen Platte eine gewöhnliche Spiegelglasscheibe eingelassen ist. Legt man nun auf diese Scheibe ein Stück weißes nicht allzu dickes Papier, so kann auf demselben durch geeignete Einstellung des Mikroskopes das Bild des Objektes erzeugt werden, das sich nun mit leichter Mühe zeichnerisch festhalten läßt. Die Größe des Bildes ist leicht durch Veränderung der Entfernung zwischen Mikroskop und Planspiegel zu variieren. 2) Kann aus irgendwelchen Gründen das Mikroskop nicht umgelegt werden, so empfiehlt sich folgende Anordnung: Die aus der Lampe austretenden gekühlten parallelen Strahlen werden in den Konkavspiegel des Mikroskopes geworfen. In diesem Fall wird auf der Scheibe im Tisch ohne weiteres vom Okular des Mikroskopes das zu zeichnende Bild erzeugt. Hier läßt sich eine verschiedene Größe dadurch erzielen, daß man die Entfernung zwischen der Glasplatte und dem Okular verändert. In beiden Fällen ist es vorteilhaft, die beschriebene Apparatur auf dem Fußboden aufzustellen. Man hält dann bei Anwendung der geeigneten Linsensysteme die richtige Bildgröße etwa in Tischhöhe. Bei Anwendung schwacher Objektive empfiehlt es sich, den Kondensor des Beleuchtungsapparates zu entfernen, da dann eine gleichmäßigere Beleuchtung des Gesichtsfeldes erzielt wird.

Als Fixierungsflüssigkeiten für das Schnittmaterial dienten Zenkersche Lösung und Sublimateisessig (angewandt bei größeren Stücken), Flemmingsche Flüssigkeit und Maximows Gemisch. Für die feineren histologischen Untersuchungen lieferte die Flemmingsche Flüssigkeit die besten Resultate, während sich das Maximowsche Gemisch ganz besonders zur Fixierung des Flimmerepithels eignete. Gefärbt wurden die Präparate mit Heidenhains Eisenhämatoxylin, Delafieldschem Hämatoxylin und Eosin, Malloryschem Gemisch (zu Übersichtsbildern) und mit Safranin. Zu erwähnen ist noch, daß es sich als außer-

ordentlich wichtig herausstellte, nur ganz frisches Material zur Fixierung zu verwenden und deshalb dieselbe draußen im Freien vorzunehmen, sofort nachdem die Tiere aus dem Wasser geholt worden waren. *E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).*

B. Wirbeltiere.

Fiorio, L., Ricerche sulle relazioni morfologiche fra leucociti, globuli rossi e cellule del connettivo (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **29**, 1913, p. 321—370 m. 1 Tfl.).

Benutzt wurde das Blut von Frosch und Meerschweinchen. Verf. versuchte zunächst verschiedene Methoden der Fixierung und Färbung. Die besten Resultate ergab eine kalt gesättigte Lösung von Sublimat, in der die Präparate etwa 20 Minuten verblieben: sehr kleine Organe oder Stücke von solchen. Dann Übertragen für etwa 20 Minuten in 70grädigen Alkohol, dann in 90grädigen Jodalkohol für 12 bis 24 Stunden, dann die übliche Einbettung in Paraffin. Schnitte durchschnittlich 7 μ, niemals dicker. Zur Beobachtung des zirkulierenden Blutes wurden ähnliche Fixierungsmethoden verwendet. Verf. überzeugte sich dabei, daß die von Patella und anderen gerühmte Fixierung durch die Wärme (Patella, V., I leucociti non granulosi del sangue. Siena 1906) sicher nicht die geeignetste Methode für die Untersuchung der feineren Zellstruktur ist, hierfür würde Verf. immer eine Fixierung auf chemischem Wege vorziehen oder die Untersuchung im frischen Zustande. Zur Färbung erwies sich am geeignetsten das Triacid von Ehrlich, wenngleich man gute Färbungen, besonders des Kernes, auch mit ähnlichen anderen Farbstoffen erhielt, wie z. B. mit dem Hämatoxylin von Carazzi, Thionin usw. Für die Färbung des frischen Präparates wurde verwendet Brillantkresylblau. *Schiefferdecker (Bonn).*

Griesmann, B., Über die fibrilläre Struktur des Sarkolemms (Internat. Monatschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **29**, 1913, p. 268—272 m. 1 Fig. im Text).

Untersucht wurde der Gastrocnemius des Frosches. Zur Fixierung wurden nach vielen Versuchen Sublimat und Formol benutzt. Eine Mischung von Sublimat mit Eisessig erwies sich wegen der Maskierung der Bindegewebsfasern als unzweckmäßig. Das Material verblieb 24 Stunden in der Fixierungsflüssigkeit, dann ebenso langes Auswaschen in destilliertem Wasser, dann steigender Alkohol. Einbettung in Paraffin, Schnittdicke 5 μ. Zur Färbung waren die folgenden zwei Bindegewebsfärbungen am geeignetsten: 1) Nach Woronin: Färbung der Schnitte in 1prozentiger Osmiumsäurelösung 10 Minuten

oder länger, ebenso langes Einlegen in gesättigte Tanninlösung, Übertragen in Osmiumsäure für 20 Minuten, längeres Auswaschen in absolutem Alkohol. 2) Nach TRAINA (H. TRAINA, Eine neue und einfache Methode der Bindegewebsfärbung. Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. **20**, 1909, No. 23). Ferner wurde eine Anzahl Schnitte im Thermostaten bei einer Temperatur von 37° der Trypsinverdauung 24 Stunden lang ausgesetzt, bis die Muskelsubstanz verdaut war, und hierauf wurde das äußerst gebrechliche Bindesubstanzgerüst nach WORONIN gefärbt. Diese Methode ergab die klarsten Bilder. Das Sarkolemm würde danach aus einem zarten Netze äußerst feiner Fibrillen bestehen, niemals aber eine homogene, strukturlose Membran darstellen. Oft tritt durch die Färbung besonders deutlich eine zirkuläre Anordnung der Sarkolemmfibrillen um die Muskelfaser hervor, doch sind die Ringfasern stets durch verhältnismäßig gröbere und feinste Anastomosen zu einem dichtgefügten Netze vereinigt.

Schiefferdecker (Bonn).

Renaut, J., et **Dubreuil, G.,** Origine conjonctive des cellules musculaires lisses des artères, leur filiation directe avec les cellules connectives mobiles, stades cytologiques de leur développement (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 577—607 av. 11 figg. dans le texte).

Um die allmähliche Entwicklung der glatten Muskelfasern der Arterien festzustellen, benutzte Verf. das große Netz von sich entwickelnden Kaninchen, in welchem die wachsenden Gefäße sehr deutlich erkennbar sind. Das Netz wird in einer physiologischen Kochsalzlösung von 8 : 1000 auf dem Objektträger ausgespannt und mit der Flüssigkeit von LENHOSSÉK fixiert (Sublimat, wässerige gesättigte Lösung 75 Volumenteile, absoluter Alkohol 20 Volumenteile, Essigsäure 5 Volumenteile), dann in Jodalkohol ausgewaschen. Färbung mit: Eisenhämatoxylin, Hämateïn und Eosin oder Pyronin, Hämateïn mit Pikrin-Ponceau. In einigen besonderen Fällen wurde eine Doppelfärbung der Bindesubstanz angewendet: Hämateïn, Picro-Bleu, Picro-Ponceau von CURTIS. Zur Darstellung der „durchsichtigen Hüllen" (manchons pellucides) wurde die Färbungsmethode von DUBREUIL mit Safranin-Picro-Bleu angewendet. Die Silberimprägnation wurde in der gewöhnlichen Weise ausgeführt: Das Netz wird in reinem Wasser auf dem Objektträger ausgebreitet, mit einer 0·5prozentigen Lösung von Silbernitrat bedeckt, in Wasser abgewaschen, in Alkohol fixiert und mit Hämateïn oder mit Karmalaun schwach gefärbt.

Schiefferdecker (Bonn).

Rosenbaum, O., Über die Struktur der Grundsubstanz des Netzknorpels (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **29**, 1913, p. 264—267 m. 1 Tfl.).

Zur Untersuchung wurde benutzt die Ohrmuschel des Rindes, da in ihr die Knorpelkapseln ziemlich weit auseinander liegen und da das besonders in der Mitte sehr grobe elastische Gewebe große Zwischenräume in seinen Maschen freiläßt. Die Lage der Kapseln, die meist zwei Zellen enthalten, zeigt im Gegensatz zu denen des Hyalinknorpels eine große Regelmäßigkeit, indem ihre Längsachse senkrecht zur Oberfläche orientiert ist. Die elastischen Fasern verlaufen hauptsächlich in der Richtung von einem Perichondrium zum anderen. Die ganze übrige Masse des Knorpels besteht aus feinen, gleichmäßig dicken, kollagenen Fibrillen, die eine ziemlich komplizierte Anordnung zeigen. Kolster hat s. Z. Trypsinverdauung angewendet, um das kollagene Gewebe zu isolieren, und die Präparate meist ungefärbt betrachtet, da die Bilder durch die angewandten Färbungen an Schärfe verloren. Auch Verf. hat teilweise die Trypsinverdauung benutzt, um die kollagenen Fasern darzustellen, hat aber mit dieser nicht so gute Resultate erhalten, wie mit einer anderen unten zu beschreibenden Methode. An den ungefärbten Schnitten ist eine Verwechslung mit feinen und nicht völlig verdauten elastischen Fasern sehr leicht möglich, besonders in der dicht unter dem Perichondrium befindlichen Schicht. Die Färbung mit Eosin und Hämalaun ist nach Kolster ungeeignet. Die Bindegewebsfärbung nach Hansen mit Pikrinsäure und Säurefuchsin ist zwar zuerst ganz günstig, vergeht aber nach einigen Wochen. Will man die Trypsinverdauung anwenden, so soll man den Knorpel mit Formol fixieren, mit dem Gefriermikrotom dünn schneiden und die Schnitte einige Stunden in Osmiumsäure legen (5 bis 10 Tropfen einer 1prozentigen Lösung auf 20 cc Wasser), ehe man sie in die Verdauungsflüssigkeit bringt. Als solche eignet sich am besten eine Lösung von 1 g Trockentrypsin in 200 bis 300 cc Wasser mit einem Zusatze von Toluol. Diese Lösung wird alle 2 Tage erneuert, und nach etwa 6 Tagen ist gewöhnlich die Verdauung (bei 38 bis 40°) genügend, was man makroskopisch schon an dem Verschwinden der durch die Osmiumsäure hervorgerufenen schmutziggelben Farbe der Schnitte erkennen kann. Da diese sehr empfindlich sind, klebt man sie am besten nach dem Ausspülen der Farbe mit Wasser auf und deckt dann erst ein. Weit vorteilhafter als die angegebenen ist die folgende Methode: Fixierung des Knorpels in Formol, 3 bis 4 mm dicke Stücke kommen in alkoholische Kalilauge (10 bis 15 Prozent Kalilauge in 70prozentigem Alkohol), um die kollagenen Fasern von dem sie verklebenden Chondroid zu befreien. Die Fasern selbst werden, wie Kontrollversuche mit den Schwanzsehnen der Maus und Vergleiche mit den Resultaten der Trypsinverdauung ergeben haben, von alkoholischer Kalilauge der angegebenen Konzentration selbst in der Wärme (40°) nicht angegriffen, während sie in wässeriger Lösung, besonders in der Wärme, bald aufgelöst werden. Nach 8 bis 10 Tagen ist die Demaskierung gewöhnlich genügend vorgeschritten, doch tut man

gut, einen Teil des Materials schon vor dieser Zeit und einen Teil nach längerer Einwirkung weiter zu behandeln, da man erst am fertigen Präparate feststellen kann, ob der Versuch gelungen ist. Man stellt dann mit dem Gefriermikrotom möglichst dünne Schnitte her (5 μ) und färbt nach Bielschowsky, wobei man die Schnitte so lange in der Silberlösung läßt, bis sie leicht braun sind, was gewöhnlich etwa 5 bis 6 Tage dauert. Sind die elastischen Fasern nicht zu sehr angegriffen, so kann man diese noch mit Orceïn färben, sonst treten sie als helle Streifen hervor. So erhaltene Präparate bleiben dauernd gleich gut. Die kollagenen Fasern lassen zwei Systeme unterscheiden, von denen das eine sich oft ganz schwarz färbt, das andere färbt sich immer violett. Daß es sich wirklich um kollagene Fasern handelt, beweist — außer dem Verhalten gegen Trypsin und alkoholische Kalilauge — dasjenige gegen Farbstoffe: Weigertsche Lösung und Orceïn färben nicht, dagegen Säurefuchsin, Eosin und die Methode von Bielschowsky. *Schiefferdecker (Bonn).*

Guieysse-Pellissier, A., Caryoanabiose et greffe nucléaire (Arch. d'Anat. Micr. t. **13**, 1911—1912, p. 1—54 av. 1 pl.).

Verf. hebt zunächst hervor, daß es seit langer Zeit bekannt ist, daß um einen in tierisches Gewebe gebrachten Fremdkörper sich nach mehr oder weniger langer Zeit Riesenzellen anhäufen. Man hat die Art der in das Gewebe gebrachten Körper immer wieder variiert, aber immer wieder Riesenzellen erhalten. Es hat daher keinen Zweck, noch weiter immer wieder neue Körper einzuführen, das, worauf es ankommt, ist, einen Körper auszuwählen, der sich gut schneiden läßt, leicht handhaben läßt und der nicht zu schnell resorbiert wird. Holundermark entspricht diesen Anforderungen und ist sehr bequem anzuwenden, es läßt sich weiter gut schneiden und hat außerdem den großen Vorteil, daß die in seine Maschen eingewanderte Gewebsteile sich hier an Ort und Stelle entwickeln, und daß man infolgedessen in drei oder vier benachbarten Maschen verschiedene Entwicklungsstadien von Riesenzellen vorfindet, die man dann bequem miteinander vergleichen kann. Das ist aber von großer Wichtigkeit. Als Versuchstier wurde das Meerschweinchen verwendet. Es wurden verschiedene Organe und Gewebe benutzt, es zeigte sich aber bald, daß die gewählte Stelle von wenig Bedeutung ist, in Leber, Niere, Muskeln ist nach etwa 8 Tagen das Stück Holundermark von einer Schicht dichten Bindegewebes umgeben und zwischen ihm und diesem Gewebe befindet sich stets eine fast zusammenhängende Schicht von Riesenzellen, die mehr oder weniger vollständig die ersten drei oder vier Reihen der Maschen ausfüllen. Die angewandte Technik hatte an sich nichts Spezielles, doch empfiehlt Verf. besonders die Dreifachfärbung von Flemming. Die in Flemmingscher Flüssigkeit während 1 bis 2 Tagen fixierten Stücke werden sorgfältig aus-

gewaschen, durch steigenden Alkohol bis in 96prozentigen Alkohol gebracht, dann in eine Mischung von gleichen Teilen von absolutem Alkohol und Schwefelkohlenstoff gebracht. Die Stücke schwimmen zuerst auf der Oberfläche, sinken dann auf den Grund des Gefäßes. Hierauf werden sie übertragen in reinen Schwefelkohlenstoff, sie schwimmen hier wieder zuerst oben, sinken dann unter, zu dieser Zeit bringt man sie in reines Paraffin für 1 bis 2 Stunden. Verf. empfiehlt diese Einbettungsmethode sehr, sie ist schnell und die Stücke schrumpfen nur wenig. Nach Anfertigung von möglichst feinen Schnitten, was wegen der Härte des Holundermarkes schwierig ist (die Schnitte wurden selten dünner als 6 μ), werden sie gefärbt für 2 Tage in Safranin, dann in schwach angesäuertem Alkohol bis zu einer Rosafärbung entfärbt. Sie werden dann von neuem gefärbt mit einer starken Lösung von Gentianaviolett während 2 bis 3 Stunden, dann in einer sehr konzentrierten Lösung von Orange einige Minuten lang. Dann schnelles Entwässern in Alkohol, Entfärbung und Differenzierung in Nelkenöl, Auswaschen in Xylol und Einschluß in Balsam. Mit dieser Methode färbt sich das Chromatin der ruhenden Kerne violett, das Kernkörperchen rot, das kondensierte Chromatin, wie es sich in den in Mitose befindlichen Kernen, bei der Pyknose usw. vorfindet, färbt sich lebhaft rot. Diese beiden Färbungen sind sehr wichtig, denn sie erlauben den funktionellen Zustand des Kernes zu erkennen. Das Protoplasma färbt sich gelb durch Orange. — Verf. hat auch Stücke nach Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit mit Safranin und mit Indigokarmin und Pikrinsäure gefärbt. Diese Methode ist besonders günstig für die Darstellung der Bindegewebsfibrillen, die sich blaugrün färben, während das reine Protoplasma sich grüngelb färbt. Weiter wurden zur Fixierung verwendet die Flüssigkeiten von Bouin, von Zenker, von Tellyesniczky. Die so fixierten Stücke wurden mit Hämalaun gefärbt, mit der schnellen Eisenfärbung, und darauf folgend mit van Gieson, mit der Dreifachfärbung nach Prenant (Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Eosin, Lichtgrün). Diese letzten Methoden ergaben nichts Besonderes.

Schiefferdecker (Bonn).

Werneke, F., Die Pigmentierung der Farbenrassen von Mus musculus und ihre Beziehung zur Vererbung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **42**, 1916, p. 72—106 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.).

Der Zweck vorliegender Arbeit ist die Pigmentierungsverhältnisse durch eine mikroskopische Analyse aufzudecken. Es soll gezeigt werden, welche Pigmentierungsverhältnisse die Haarfarbe der verschiedenen Rassen erzeugen und welches Licht von den hierbei gewonnenen Resultaten auf die einzelnen Erbfaktoren fällt. Da das charakteristische Rassenmerkmal die Farbe des Rückens ist, wurden die Haarproben

immer der Rückengegend, und zwar hauptsächlich der Mitte derselben entnommen.

Die den Hohlraum jedes Haares erfüllende Luft bereitet der mikroskopischen Untersuchung große Schwierigkeiten. Die Luft in genügendem Maße und auf unschädliche Weise aus den Haaren zu entfernen, ist aber sehr schwer. Die ersten Luftpumpenversuche mittels Wasserstrahls schlugen fehl und Verf. half sich lange Zeit in der Weise, daß er die Haare zwischen zwei polierten Stahlplatten preßte und dann in Alkohol, Xylol und Kanadabalsam brachte. Etwas bessere Resultate wurden schließlich mit einer Quecksilberluftpumpe, die den Druck auf $^1/_{1000}$ mm zu reduzieren erlaubte, erhalten. Luft oder wohl auch Xyloldampf trat aber bald wieder in den Hohlräumen der Haare auf. Später wurden die Haare, anstatt in Xylol, in stark verdünntem Kanadabalsam unter den Rezipienten gebracht. Aber auch so konnte dem Übelstande noch nicht genügend abgeholfen werden. Erst als festgestellt worden war, daß durch vorsichtiges Kochen die Pigmentverhältnisse nicht leiden, wurden mehr befriedigende Resultate erhalten. Die Haarbüschel wurden mit etwas Glyzerin glatt auf die Objektträger gebracht, mit Deckgläschen bedeckt und vorsichtig über einer Spiritusflamme gekocht. Nach dem Kochen, das aber ja nicht zu lange fortgesetzt werden darf, da sonst Trübungen in der Hornmasse auftreten, werden die Deckgläschen festgekittet.

Für die mikroskopische Untersuchung ist es aber unbedingt notwendig ein apochromatisches Ölimmersionssystem zu nehmen, mit offenem Kondensor zu arbeiten und zwischen diesen und den Objektträger Öl zu bringen. *E. Schoebel* (*z. Zt. Leipzig*).

Fischel, A., Über rückläufige Entwicklung. 1. Die Rückbildung der transplantierten Augenlinse. 2. Über Umbildung des Hautepithels bei Urodelenlarven (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **42**, 1916, p. 1—71 m. 4 Tfln.).

Den Anlaß zu den Untersuchungen bildete die Frage nach den wahren Potenzen der Zellen des wachsenden und des fertigen Organismus. Als Untersuchsobjekt wurde die Augenlinse gewählt, weil frühere Untersuchungen gelehrt hatten, daß wenigstens bei einigen Tierarten die Linse nicht aus einem hierfür in ganz bestimmter Weise vorgebildeten Teile des Ektoderms entsteht, sondern daß das ganze oder doch ein großer Bezirk des Ektoderms die Potenz zur Linsenbildung besitzt, und daß nur der Kontakt mit dem Augenbecher darüber entscheidet, welche Stelle diese Potenz auch wirklich entfaltet. Da es nun nicht unwahrscheinlich ist, daß das Ektoderm des in Betracht kommenden Entwicklungsstadiums auch noch andere Potenzen in sich enthält, die durch passende Faktoren auszulösen sind, wurde versucht diese dadurch zu schaffen, daß die Linse dem Einfluß einer ihr fremden Umgebung ausgesetzt, also aus dem Auge entfernt

und dann an eine andere Körperstelle verpflanzt wurde. Die Augenlinse erscheint übrigens noch dadurch besonders zu solchen Versuchen geeignet, daß sie sich vollkommen unbeschädigt transplantieren läßt und auch schon normalerweise ihr Nährmaterial nicht durch eingewachsene Blutgefäße erhält.

Die Versuche wurden an jungen etwa 30 mm langen Larven von Salamandra maculata ausgeführt. Die exstirpierte Linse wurde sofort unter das Hautepithel verschiedener Stellen des Kopfes und des Rumpfes — mit Ausnahme der ventralen Flächen, die sich natürlich nicht verwenden lassen — gebracht, die Hautlappen wurden über sie gelegt, so daß die Linse an Ort und Stelle verblieb. Diese Transplantationsstelle wurde noch vor der Linsenexstirpation dadurch geschaffen, daß die Haut mit einem feinen Messerchen eingeschnitten und ein Teil des nun freiliegenden Gewebes teils entfernt, teils ein wenig zur Seite gedrängt wurde, um eine genügend große Einlagerungsstätte zur Verfügung zu haben. Zur Transplantation wurde in fast allen Fällen dasselbe Tier verwendet, dem auch die Linse — es wurde stets nur ein Auge operiert, um das Tier möglichst wenig zu schädigen und um die Fütterung zu erleichtern — exstirpiert worden war, und die Transplantationsstelle befand sich stets auf derselben Körperseite wie das operierte Auge.

Nach erfolgter Transplantation durfte das Tier nicht gleich wieder in Wasser gebracht werden, um zu vermeiden, daß sich die Hautlappen bei den Bewegungen des Tieres verschöben und die Linse wieder herausfiele. Die leicht betäubten Tiere wurden vielmehr längere Zeit, bis $1^1/_2$ Stunden, auf feuchtem Fließpapier in einer feuchten Kammer liegen gelassen, bis zu erwarten war, daß die Hautlappen an die Wundstelle fixiert waren und die Linse nunmehr unter der Haut festgehalten wurde. Bei vorsichtiger Behandlung halten die Larven einen derartig langen Aufenthalt außerhalb ihres normalen Mediums ohne Schaden aus. Die operierten Tiere wurden hierauf in verschiedenen Zeiträumen nach der Operation getötet und die in Betracht kommenden Körperstellen in Schnittserien zerlegt.

Die mikroskopische Untersuchung ergab nun zwar in betreff der gestellten Frage ein völlig negatives Resultat, ließ aber in unerwarteter Weise eigenartige Umbildungsvorgänge, welche sowohl die transplantierte Linse als auch ihre neue Umgebung erfahren, feststellen.

E. Schoebel (z. Zt. Leipzig).

Lawrentjew, B., Zur Frage der Morphologie und Verteilung der Nervenendigungen in der weiblichen Urethra (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **30**, 1914, p. 337—362 m. 2 Tfln.).

Zur Untersuchung dienten Katzen, Kaninchen und Hunde. Zur Nervenfärbung wurde vorzugsweise benutzt die intravitale Methylenblaufärbung nach Ehrlich, und zwar in folgender Weise: Dem in

tiefer Chloroform-Narkose befindlichen Tiere wurde der Brustkorb eröffnet und durch einen Schnitt in den linken Ventrikel eine Kanüle in die Aorta eingeführt. Diese Kanüle steht durch eine Guttaperchaföhre in Verbindung mit einem Reservoire, in dem mit Hilfe eines Richardsonschen Ballons ein konstanter Druck unterhalten wurde. Mittels dieses Apparates wurde das Blutgefäßsystem des Tieres mit einer bis auf 37° erwärmten physiologischen Kochsalzlösung ausgespült, wobei das Spülwasser durch den eröffneten rechten Vorhof nach außen abfloß. Sobald in der ausfließenden Kochsalzlösung kaum noch Spuren von Blut bemerkbar waren, wurde das Reservoir mit einer in physiologischer Kochsalzlösung oder in Lockescher Flüssigkeit hergestellten 1- bis 0·2prozentigen Methylenblaulösung (Methylenblau rectif. nach Ehrlich) gefüllt. Es wurden 200 bis 300 g der Lösung in das Tier eingeführt. Die Menge des jedesmal einzuspritzenden Farbstoffes läßt sich nach der Stärke der Färbung der dem Auge zugänglichen Schleimhäute bestimmen. Nicht die Gesamtmenge der in die Aorta eingeführten Farblösung, sondern vielmehr die in die Blutgefäße der zu untersuchenden Körpergegend eingedrungene Menge ist wesentlich, da diese natürlich die Färbung der betreffenden Schleimhäute hervorruft. Eine zu große Menge der eingespritzten Flüssigkeit wirkt ungünstig, da sie eine rasch um sich greifende Färbung der Epithelzellen, des Bindegewebes und der Muskelfasern erzeugt, durch die das Bild des Nervenverlaufes gänzlich verdeckt werden kann. In kurzer Zeit tritt dann eine Ausscheidung des Farbstoffes in Form von Kristallen ein. 5 bis 10 Minuten nach der Methylen-Injektion wurde die Urethra gewöhnlich zusammen mit der Harnblase ausgeschnitten und dann die letztere mit dem in ihr enthaltenen Harne vorsichtig abgetrennt. Zur Verfolgung sämtlicher Nervenverzweigungen in der Schleimhaut und der Muskelhaut wurden diese beiden Häute voneinander getrennt. Sie wurden dann je für sich auf einem breiten Objektträger zurechtgelegt und von Zeit zu Zeit mit einer schwachen Methylenblaulösung (1 g auf 2000 cc physiologischer Kochsalzlösung) oder einfach mit der Kochsalzlösung befeuchtet, um ein Eintrocknen zu verhüten. Um die Präparate durchsichtiger zu machen, wurden sie für kurze Zeit mit einem aufgelegten Objektträger belastet (eine längere Belastung führt durch Verhinderung des Luftzutrittes zum Verblassen der Nervenfärbung) und auf diese Weise wurde der Vorgang der Nervenfärbung bei schwacher Vergrößerung verfolgt. War das Maximum der Färbung erreicht (mitunter erst nach 2 Stunden), so wurden die Präparate in eine filtrierte, gesättigte Lösung von Ammoniumpikrat übertragen, in der sie gewöhnlich 24 Stunden verblieben. Dann wurden die Präparate auf einem Objektträger ausgebreitet, mit einer Mischung von Ammoniumpikrat (35 Teile), Glyzerin (50 Teile) und Wasser (50 Teile) befeuchtet und mit einem Deckglase bedeckt. Infolge der Aufhellung der Gewebe durch das Glyzerin tritt ein deutliches Bild der Nervenverteilung hervor, bei

größerer Dicke der Präparate wurden sie indessen, zur Erzielung einer größeren Durchsichtigkeit, noch mit Gewichten belastet, die auf das Deckgläschen aufgelegt wurden. — Die Golgi-Methode benutzte Verf., um an Querschnitten durch die Urethra die Details des Verhaltens der Nervengeflechte und des Verlaufes der Hauptnervenstämmchen in dem umgebenden Gewebe darzustellen, ferner für die Untersuchung der in das Epithel eingedrungenen feinen, varikösen Nervenfasern. Die besten Resultate wurden erhalten bei Benutzung der von Cajal etwas modifizierten Mischung:

Kalium bichromicum, 5prozentige Lösung . .	2 Teile
Osmiumsäure, 1prozentige Lösung	1 Teil

In dieser Mischung verblieben die Stückchen 7 bis 9 Tage lang im Thermostaten bei 37 ^{0}, dann wurden sie mit bereits vorher benutzter Silberlösung ausgewaschen und für 1 bis 2 Tage in eine 1- bis 2prozentige Lösung von Silbernitrat gebracht. Weiter übertrug Verf. die Stückchen in absoluten Alkohol und schnitt zwischen Holundermark aus freier Hand, die Schnitte kamen in Kreosot, dann in Xylol, schließlich in Kanadabalsam. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Mawas, J., Sur un nouveau procédé de coloration de la graisse dans les tissus et particulièrement dans le système nerveux (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes, 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 206—207).

1) Fixierung der Stücke in der Bichromat-Essigsäure-Mischung von Tellyesniczky:

Kaliumbichromat	3 g
Wasser	100 Vol.-T.
Acidum aceticum cristallisatum	5 „

während 24 Stunden. 2) Auswaschen in fließendem Wasser. 3) Imprägnierung des Fettes mit 1prozentiger Osmiumsäure während 24 Stunden. 4) Auswaschen in fließendem Wasser. 5) Einschluß in Paraffin oder Zelloïdin. Ergebnisse: Das neutrale Fett allein ist intensiv schwarz gefärbt, die Lipoide hellgrau, das Myelin hellgrau. Das degenerierte Myelin intensiv schwarz wie das Fett, das Nebennierenfett ist unlösbar geworden. Als Beispiele für die Wirkung der Methode werden genannt: 1) Präparate von normalen Nerven und Ganglien und solche nach Wallerscher Degeneration. 2) Schnitte aus der Niere der neugeborenen Katze mit Fett in den gewundenen Röhrchen und in dem Epithel der Glomeruli, was für die sekretorische Funktion des letzteren spricht. 3) Präparate der Nebenniere vom Kaninchen. 4) Präparate der fettigen Degeneration von Leber und Myocard. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß sich nur das neutrale Fett schwarz färbt oder Mischungen von Fettstoffen, wenn jenes vorherrscht. Weder Lipoide noch Mitochondrien werden

gefärbt. Die Methode kann vorteilhaft die von Marchi ersetzen beim Studium der Nervendegeneration, denn sie gibt niemals Niederschläge und ist außerordentlich viel schneller. Außerdem ist die Fixierung des ganzen Stückes weit besser, da die Fixierungsmischung schnell eindringt und fixiert. *Schiefferdecker (Bonn).*

Barrinton, F. J. F., The variations in the mucin content of the bulbo-urethral glands (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **30**, 1914, p. 1—20 m. 1 Tfl.).

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich ausgeführt an den Drüsen der Katze, des Meerschweinchens und der Ratte. Dieselben sind bei der Katze bei beiden Geschlechtern gut ausgeprägt, beim Meerschweinchen und der Ratte sind die Bartholinischen Drüsen nur in Spuren vorhanden oder fehlen ganz, was besonders bemerkenswert ist in Hinsicht auf die enorme Entwicklung der Cowperschen Drüsen bei diesen Tieren. Die von Huguier als Bartholinische Drüse bei der Ratte abgebildete Drüse hat einen Gang, der sich an der Seite der Clitoris öffnet, und den histologischen Bau einer Talgdrüse. Es ist fast sicher, daß diese Drüse nichts zu tun hat mit der Bartholinischen Drüse und der in dem männlichen Geschlechte vorhandenen Präputialdrüse entspricht. — Die Drüsen wurden fixiert in einer Sublimat-Formol-Essigsäure-Mischung und in Paraffin geschnitten. Vor der Färbung wurde der Überschuß an Sublimat aus den Schnitten mit Jod-Alkohol entfernt. In der großen Mehrheit der Fälle wurde Mucikarmin angewendet zur Darstellung des Mucins, nachdem der Schnitt gefärbt worden war mit Eisenhämatoxylin von Mallory. Es schien dies das beste Reagenz auf Mucin zu sein. Vielfach wurden Schnitte auch mit Thionin gefärbt. Waren größere Mengen von Mucin vorhanden, so ergab eine frisch hergestellte Färbeflüssigkeit nach Weigert für elastische Fasern eine graue Färbung sowohl für diese wie für das Mucin. Diese Art der Färbung wurde gelegentlich angewendet, mit nachfolgender Färbung mit Lithionkarmin, um den Gehalt an Mucin in zwei Drüsen zu vergleichen, in denen größere Mengen von Mucin enthalten waren.

Schiefferdecker (Bonn).

Salkind, J., Sur quelques structures fines et formes d'activité du thymus des mammifères (Arch. d'Anat. Micr. t. **15**, 1913, p. 315—348 av. 1 pl.).

Verf. bespricht zunächst die epithelialen Zellen der Thymus. In diesen finden sich runde, punktförmige Körnchen, außer diesen aber finden sich auch Stäbchen, die zusammenhängend sind oder sich zusammensetzen aus einzelnen mit den Enden zusammenliegenden Stücken und sich auch in eine Kette von Körnchen fortsetzen können. Man trifft diese Stäbchen nicht an in Präparaten, die eingebettet worden sind mit Hilfe von Xylol, Toluol, Chloroform oder Azeton-

Äther, falls nicht die Stücke in stark chromierten Flüssigkeiten fixiert waren. Auf Ausstrichpräparaten findet man sie nach sehr verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten, aber nicht nach absolutem Alkohol, Alkohol-Äther oder der Flüssigkeit von CARNOY. Ein sicheres Verfahren, um sie aufzufinden, ist die Einbettung durch reines Azeton von Stücken, die fixiert sind in nichtalkoholischen Flüssigkeiten oder in Azeton selbst, falls man bei der Behandlung der Schnitte absoluten Alkohol und Xylol vermeidet. Die durch Erwärmung und Azeton von Paraffin befreiten Schnitte werden gebeizt in einer 1prozentigen Lösung von Kobaltchlorür oder mit dem sulfalizarinsauren Natrium von BENDA, sie werden gefärbt in der T-E-N-Mischung (polychrome Lösung bestehend aus Toluidinblau, Erythrosin, Naphtholgelb von SALKIND [1912 und 1913], käuflich zu haben bei GRÜBLER) und aufgehoben nicht in Balsam oder Zedernholzöl, welche die Lipoide auflösen würden, sondern direkt in einer wässerigen Lösung: 5prozentige Lösung von Ammoniummolybdat in destilliertem Wasser. Nach Verf. handelt es sich um Mitochondria. — Wegen weiterer Einzelheiten wird auf den Text des Originals verwiesen. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Nicolas, J., Regaud, C., et Favre, M., Sur la fine structure des glandes sudoripares de l'homme particulièrement en ce qui concerne les mitochondries et les phénomènes de secrétion (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes, 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 191—200 av. 3 figg.).

Untersucht wurden kleine Stückchen gesunder Haut von erwachsenen Menschen, die bei chirurgischen Operationen entnommen worden waren, aus den folgenden Gegenden: Fingerbeere, Achselhöhle, Scrotum, Nase. Diese Hautstückchen wurden mit mehreren Fixierungs- und Färbungsmethoden behandelt, um Resultate zu erhalten, die einander ergänzten. In der vorliegenden Arbeit werden indessen nur die Mitochondria berücksichtigt und die Erscheinungen bei der Schweißsekretion. Hierfür dienten die folgenden Spezialmethoden: 1) Fixierung: kleine Stücke der frischen Haut werden fixiert in den folgenden Mischungen:

a) 3prozentige wässerige Lösung von Kaliumbichromat . . . . 80 Vol.-T.
Formol . . . . 20 „
b) Formol . . . . 20 „
Destilliertes Wasser . . . . 80 „

Dauer der Fixierung 2 bis 4 Tage bei Stubentemperatur. 2. Beizung: Die Stücke werden nicht abgewaschen und werden bei Stubentemperatur in einer wässerigen 3prozentigen Kaliumbichromatlösung 1 bis 13 Wochen aufbewahrt. Die Dauer der Beizung ist von grundlegender Wichtigkeit. Bei der Verschiedenheit der in der Haut vorhandenen

Zellen erhält man bei derselben Tierart je nach der Dauer der Beizung sehr verschiedene Resultate: diese oder jene Art von Mitochondrien, diese oder jene Art von sekretorischen Einschlüssen erscheinen gefärbt oder ungefärbt. Nach längerer Erfahrung wird man sicher feststellen können, welches die günstigste Zeitdauer für die einzelnen Elemente ist, vorläufig aber empfehlen die Verff., so vorzugehen, daß man gleichzeitig eine größere Anzahl von kleinen Stückchen desselben Objekts in dieselbe Schale einlegt und dann zu verschiedenen Zeiten zur Weiterbehandlung herausnimmt. Sie werden nach der Herausnahme zunächst 24 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen. Auf diese Weise wird es möglich sein, die für die einzelnen Elemente günstigste Zeitdauer herauszufinden. 3) Färbung: Eisenhämatoxylin nach Heidenhain in folgender Weise angewendet: die sehr dünnen Paraffinschnitte werden zunächst gebeizt in einer frisch bereiteten Lösung von Eisenalaun bei etwa 35° während 24 Stunden. Nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser werden sie 24 Stunden lang bei Stubentemperatur in der folgenden Farbmischung überfärbt:

Hämatoxylin	1 g
Absoluter Alkohol	10 cc
Reines Glyzerin	10 „
Destilliertes Wasser	80 „

Nach kurzem Abspülen in Wasser werden die Schnitte unter sorgfältiger Beobachtung differenziert in der Eisenalaunlösung, die mit einem Drittel des Volumens von destilliertem Wasser verdünnt ist. Schnitte von stark gebeizter Haut sind schwer anzufertigen; um sie dünn und regelmäßig zu erhalten, muß die Einbettung besonders sorgfältig geschehen und das Messer muß ausgezeichnet sein. In den so erhaltenen Präparaten sind die Muskelzellen der Schweißdrüsen im allgemeinen ungefärbt, aber doch leicht sichtbar, mitunter sind sie durch eine leichte Schrumpfung von den Drüsenzellen etwas abgehoben. Die Kerne der Drüsenzellen sind bald ungefärbt, bald schwarz gefärbt, Färbungsverschiedenheiten, wie sie bei Drüsen gewöhnlich vorkommen. Die Cuticula wird nicht gefärbt. Deutlich treten hervor die Sekretkörner, lipoide Bläschen, die Mitochondria. Die Grenzen der Epithelzellen in den Schweißdrüsen sind nicht sichtbar. Es ist dies bei dieser Behandlungsmethode bei allen Drüsen der Fall. Wahrscheinlich beruht das darauf, daß die benachbarten Epithelzellen in genauem Anschlusse aneinander verharren und daß die dünne Protoplasmaschicht zwischen ihnen nicht hervortritt, da ihr Brechungsvermögen übereinstimmt mit dem des Zellprotoplasmas. Setzt man eine hinreichende Menge von Essigsäure zu den Fixierungsflüssigkeiten hinzu, so treten die Zellgrenzen hervor. — Mit denselben Methoden haben die Verff., wie sie in einer späteren Arbeit mitteilen, auch die Mitochondrien der Talgdrüsen des Menschen dargestellt.

Schiefferdecker (Bonn).

Moraux, R., Recherches sur la morphologie et la fonction glandulaire de l'épithélium de la trompe utérine chez les mammifères (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 515—576 av. 2 pl.).

Zur Untersuchung wurde hauptsächlich das Kaninchen benutzt, dessen Zellelemente hinreichend groß sind und sich leicht fixieren lassen. Es wurden der Tube kleine Stückchen entnommen (etwa von 3 bis 4 mm) aus einer beliebigen Stelle, aber vorzugsweise aus dem distalen Teile, in dem die Drüsentätigkeit stärker ist. Zuerst wurde zur Fixierung die Flüssigkeit von Bouin verwendet (Formol-Pikrinsäure-Essigsäure). Sie ergab eine gute Erhaltung der Präparate auch für Details. Nach ihr werden aber die Basalkörperchen und die Diplosomen durch Eisenhämatoxylin nur diffus gefärbt, die Kernkörperchen und das Kernchromatin sind dagegen sehr stark gefärbt und gut individualisiert, der Schleim ist färbbar mit Lichtgrün, während das Mucigen nicht deutlich gemacht werden kann. Weiterhin hat Verf. ebenso häufig eine Fixierungsflüssigkeit angewendet, die er als „Formol-Pikrinsäure-Trichloressigsäure" bezeichnet und die in folgender Weise zusammengesetzt wird:

Formol	15 cc
Trichloressigsäure, 3prozentige Lösung	85 „
Pikrinsäure	bis zur Sättigung

Diese Lösung gab ausgezeichnete Resultate in bezug auf die eigentliche Fixierung, sie erlaubt auch die Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin: die Basalkörperchen und die von ihnen ausgehenden Härchen, ebenso wie die Diplosomen, imprägnieren sich elektiv. Die Kernkörperchen und die Kernbildungen selbst sind wenig färbbar, so erscheinen die Kerne blaß und treten wenig hervor. Die Formol-Pikrinsäure-Trichloressigsäure-Mischung erlaubt im Gegensatze zu der Formol-Pikrinsäure-Essigsäure-Mischung nicht die Färbung des Mucus mit Lichtgrün, sondern nur die des Mucigens. Die in den beiden genannten Mischungen fixierten Stücke wurden nach Auswaschen in Wasser mehrere Tage lang mit Jodalkohol behandelt (nach van der Stricht), um die Zentralkörperchen deutlich zu machen. Auch Sublimat ergab diese Fixierung. Die Flemmingsche Flüssigkeit erlaubte Spezialfärbungen. Mehrfach wurde auch die Hermannsche Flüssigkeit benutzt, ergab aber nur mittelmäßige Resultate. Es wurden Quer- und Längsschnitte von 5 μ Dicke angefertigt und auf dem Objektträger fixiert. Mucikarmin ergab eine grobe Färbung, die nicht für die Details brauchbar war. Die Dreifachfärbung nach Prenant (Eosin-Eisenhämatoxylin, Lichtgrün) lieferte sehr schöne Bilder für eine genaue Untersuchung der Zellelemente, sie erlaubte das Vorhandensein von Mucigenkörnchen oder von Schleimkügelchen festzustellen je nach der Fixierung in den beiden oben genannten Mischungen. Eisenhämatoxylin allein ohne Plasmafärbung ließ deutlich die Diplo-

somen und die Basalkörperchen hervortreten. Mitunter wurde auch mit gutem Erfolge die Dreifachfärbung von Flemming angewendet (Safranin, Gentianaviolett, Orange), wodurch die Schleimkörnchen sich elektiv violett färbten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Guieysse-Pellissier, A., Étude de l'épithélium intestinal de la roussette (Scyllium catulus Cuv.). Noyaux, diplosomes, cadres cellulaires et cils, cellules caliciformes (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 469—514 av. 1 pl. et 9 figg. dans le texte).

Es war bei diesen Untersuchungen nötig, die Länge des Darmes festzustellen, der bei den untersuchten Tieren schwankte zwischen 15 cm und 1 m, da sich die Darmzellen wesentlich verschieden verhalten je nach dem Alter des Tieres, und dieses, das sonst gar nicht geschätzt werden kann, am einfachsten nach der Länge des Darmes bestimmt wird. Hauptsächlich ändert sich in den verschiedenen Lebensaltern die Beschaffenheit des Kernes. Als Fixierungsflüssigkeiten wurden nur benutzt die von Bouin und von Flemming. Beide ergaben für die Zellen die besten Fixierungsbilder, es ist aber wohl zu beachten, daß der Darm als Ganzes in ihnen schlecht fixiert wird. Der Darm wurde aus dem eben getöteten Tier entnommen, war also selbst noch lebendig, infolgedessen traten, namentlich bei den sehr jungen Tieren (Darmlänge 15 cm bis 25 cm) starke Muskelkontraktionen in den Zotten auf, die unter Umständen so stark waren, daß sie den Gipfel der Zotte fast einziehen konnten, wodurch mitunter die auf diesem sitzenden Zellen abgestoßen wurden. An vielen Stellen trennte sich auch das Epithel von der subepithelialen Schicht. Wenn derartige Veränderungen auch sehr störend waren für die Untersuchung der Topographie der Zotte, so waren sie doch nicht so unangenehm für die Untersuchung der Zellen selbst, auf die es bei der vorliegenden Arbeit speziell ankam. Die Zellen selbst aber waren gut fixiert: die feinsten Details, Diplosomen, Bürstenbesätze usw. waren vollkommen gut erhalten. Bei den älteren Tieren, von etwa 40 cm Darmlänge, treten die beschriebenen Darmveränderungen übrigens nicht mehr auf. Zur Kernfärbung genügte bei den nach Bouin fixierten Präparaten Hämateïn-Eosin. Safranin mit darauf folgendem Indigokarmin oder Lichtgrün genügte für die nach Flemming fixierten Stücke. Zur Untersuchung der feinen Differenzierung wurde die Dreifachfärbung von Prenant benutzt (Eosin, Eisenhämatoxylin, Lichtgrün). Diese Färbung ist bekanntlich spezifisch für Schleim (Mucus). Das Mucikarmin und das Lichtgrün sind beides Schleimfärbungen, sie färben aber nicht dieselben Schleimelemente: das erstere färbt den ausgebildeten Scheim (Mucus), das zweite hauptsächlich die mucigenen Körner und in dem Schleime kugelförmige Gebilde, die wahrscheinlich aus Mucigen bestehen, das noch nicht völlig in Mucus um-

gewandelt worden ist. Diese Beobachtungen veranlaßten den Verf., eine Doppelfärbung mit Mucikarmin und Lichtgrün auszuführen. Die Technik war die folgende: Das Mucikarmin wurde hergestellt nach den Angaben von Mayer: man tut in ein Reagenzröhrchen Karmin 1 g, Aluminiumchlorid 0·50 g, destilliertes Wasser 2 cc, erhitzt vorsichtig und erhält so eine dunkelrote, fast schwarze Flüssigkeit. Diese gießt man in 100 cc 50prozentigen Alkohols und erhält so die Stammlösung. Bei der Doppelfärbung wurde in folgender Weise verfahren: zuerst wurden die Schnitte gefärbt, wie bei der Dreifachfärbung von Prenant, mit konzentrierter Eosinlösung. Diese erste Färbung ist notwendig, um die Wirkung des Lichtgrüns zu begrenzen; jene muß man stärker anwenden als bei der gewöhnlichen Dreifachfärbung, — tut man es nicht, so färbt sich alles grün und es ist dann unmöglich die Mucigenkörner zu unterscheiden. Dann färbt man mit Eisenhämatoxylin in der üblichen Weise: Beizung mit Eisenalaun oder mit dem Liquor oxydatiferri-sulfurici (Verf. hat zwischen beiden Arten der Beizungen keinen wesentlichen Unterschied gefunden), färbt dann mit Hämatoxylin und entfärbt mit Eisenalaun. Arbeitet man in der Wärme, so können die Zeiten sehr herabgesetzt werden, etwa auf 55 Prozent, es genügen 10 Minuten für jede Flüssigkeit. Nach gründlichem Auswaschen färbt man ziemlich stark mit Mucikarmin (1 Volumenteil der Stammlösung verdünnt mit 3 bis 4 Volumenteilen Wasser) während 2 bis 3 Stunden. Untersucht man die Schnitte zu diesem Zeitpunkte, so müssen die Becherzellen schön rosa gefärbt erscheinen, aber nicht zu rot. Man färbt dann für einige Sekunden mit der alkoholisch-wässerigen Lösung von Lichtgrün, aber etwas stärker als bei der Dreifachfärbung von Prenant. Auf diese Weise wird der wahre Mucus durch das Mucikarmin rot gefärbt, das Mucigen dagegen grün durch das Lichtgrün. Diese Doppelfärbung ist schwierig gut zu erhalten, meist bekommt man nur ziemlich schwache Färbungen. Denn wenn man eine Farbe stärker einwirken läßt, verschwindet die andere, ist die Färbung aber gut gelungen, so ist sie sehr schön. Diese Methode läßt auch die Details in dem Aufbaue der Bürstenbesätze erkennen. Mit Mucikarmin färben sich diese nicht, sehr stark aber mit Lichtgrün. Die Schnitte müssen möglichst dünn sein, höchstens 3 μ dick, und man soll die Schnitte untersuchen mit künstlichem, leicht gelbem Lichte, das Auer-Licht ist dafür sehr geeignet, bei Tageslicht erkennt man das Grün nicht und hat nur eine matte grauliche Färbung. — Zur Färbung der Mitochondria wurde fixiert nach Regaud und gefärbt nach Altmann (Säurefuchsin). Verf. bemerkte indessen hierzu, daß die Darmepithelien von Scyllium hierfür nicht geeignet sind: die Mitochondrien sind außerordentlich klein und Verf. hat sich daher bei ihrer Untersuchung nicht weiter aufgehalten.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Policard, M. A., La cytogenèse du tube urinaire chez l'homme (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 429—468 av. 23 figg. dans le texte).

Alle Nieren wurden fixiert in Kaliumbichromat-Formol (Kaliumbichromat, 3prozentige Lösung, 80 Teile; Formol 20 Teile), längere Zeit gebeizt (14 Tage bis zu 2 Monaten) in 3prozentiger Kaliumbichromatlösung und gefärbt mit Eisenhämatoxylin nach den Angaben von Regaud. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schwarz, E., Untersuchungen über die elastischen Fasern des Uterus (Virchows Arch. Bd. **220**, 1915, H. 3, p. 323—327 m. 3 Figg. im Text).

Stücke aus verschiedenen Teilen der Uteruswand wurden in Zenkerscher Flüssigkeit oder Formol fixiert und in steigendem Alkohol gehärtet. Die Fixierung in Chromsalzen (Zenkersche Flüssigkeit) bot keinerlei Vorteil vor Formol in bezug auf die Färbbarkeit der elastischen Fasern, nur waren die Schnitte etwas gleichmäßiger. Die Färbung führte Verf. anfangs aus mit Resorcinfuchsin nach Weigert und Orceïn nach Unna-Taenzer, auch Vorfärbung mit Grenachers Alaunkarmin und Doppelfärbung mit van Gieson wurde öfters versucht. Es zeigte sich hierbei, daß die Karminfärbung den späteren Färbeprozeduren kaum standhielt, und daß die van Gieson-Färbung zwar sehr schöne Bilder gab, im allgemeinen aber eine Anzahl feiner Fasern kaum erkennen ließ. Die beiden letztgenannten Verfahren sind empfohlen worden von L. Pick, doch ergibt die einfache Elasticafärbung nach Weigert (Resorcinfuchsin) genügende Einzelheiten des nicht elastischen Gewebes und hebt das elastische Gewebe um so deutlicher gegenüber dem blassen nicht elastischen Gewebe hervor. Die Weigertsche Färbung ist der Orceïnfärbung vorzuziehen, da sie elektiver ist und nicht hyalines Bindegewebe mitfärbt. Zenker-Schnitte wurden im allgemeinen etwa 3 Stunden in Resorcinfuchsin belassen, Formolschnitte 1 Stunde, also viel länger als in den technischen Anweisungen angegeben wird. Dafür wurde etwas länger in salzsaurem Alkohol (etwa 5 Sekunden) und Alkohol differenziert. Dies hatte den Vorteil, daß sicher alles elastische Gewebe gefärbt wurde, anderes Gewebe wurde dabei nicht mitgefärbt. Das längere Belassen in der Farbflüssigkeit bot entschiedene Vorteile. Um gute Färbung zu erzielen, empfiehlt es sich, die Farbflüssigkeit alle 3 bis 4 Wochen frisch zu bereiten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Vitali, G., Di un nuovo organo nervoso di senso nell'orecchio medio degli uccelli. Ulteriore destino dell'organo della prima fessura branchiale (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **30**, 1914, p. 363—428 m. 2 Tfln.).

Bei 17 verschiedenen Vogelarten wurde ein in dem mittleren Ohre liegendes neues Sinnesorgan untersucht und zwar beim Sperlinge von den ersten Entwicklungsstadien an bis zur Geburt hin. Fixiert wurde in Zenkerscher Flüssigkeit, in Sublimat oder in Flemmingscher Flüssigkeit. Gefärbt wurde einmal mit den gewöhnlichen Methoden: Karmin, Hämatoxylin und Eosin, sodann für die Nervenfasern nach Cajal. Ferner wurden von allen 17 Arten die erwachsenen Organe untersucht: der Kopf wurde in sagittaler Richtung durchschnitten und die beiden Teile wieder entsprechend dem Ohre. Von den beiden so erhaltenen Stücken wurde nach Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit das eine entkalkt und in toto mit Hämatoxylin und Ferrum sesquichloratum gefärbt. Es wurde in Zelloidïn eingebettet und in eine Schnittserie zerlegt. Nachdem Verf. so an dem einen Stücke genau die Lage des Organes in dem mittleren Ohre festgestellt hatte, wurde das andere Stück, sehr viel kleiner zurechtgeschnitten, entkalkt, um feinere Schnitte herzustellen, an denen nach Färbung mit Hämatoxylin und van Gieson oder mit Hämatoxylin und Eosin der allgemeine Aufbau untersucht werden konnte. Da es zur Untersuchung des feineren Baues nötig war, Methoden anzuwenden, welche die Entkalkung nicht zuließen, so versuchte Verf., nachdem er beim Huhne und einigen anderen Vögeln gefunden hatte, daß das Organ hier im erwachsenen Zustande nicht, wie bei anderen Vogelarten, von allen Seiten von Knochen umgeben ist, dasselbe zu enukleieren. Wegen des Näheren wird auf das Original verwiesen. Auf diese Weise war es dem Verf. möglich, die Methoden von Cajal, Biondi, Galeotti, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, die Methode von Weigert für die elastischen Fasern, Muchämateïn und Mucikarmin für das erwachsene Organ zu verwenden. Zur Entkalkung wurden benutzt Mischungen von Pikrinsäure und Salzsäure und von Pikrinsäure und Salpetersäure, ferner 5prozentige Salzsäure- und 5prozentige Salpetersäurelösung.

Schiefferdecker (Bonn).

Mawas, J., Granulations lipoïdes des cellules fixes de la cornée et de certaines cellules conjonctives des vertébrés (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 136—141 av. 3 figg.).

In den Zellen der gesunden Hornhaut konnte Verf. lipoide Körnchen nachweisen, ebenso auch in pathologischen Fällen. Untersucht wurden Mensch, Kaninchen, Hund, Meerschweinchen, Taube usw. Fixierung in 10prozentiger Formollösung während 24 Stunden, dann Färbung der ganzen Hornhaut in einer gesättigten alkoholischen Lösung von Sudan III. Schnitte mit Rasiermesser ohne vorherige Einbettung, Differenzierung in Alkohol von 80^0 und Aufheben in Glyzerin oder in der Mischung von Apáthy. Die chemische Untersuchung ergab, daß es sich um Lipoidkörnchen handelte, die wenigstens zum

Teile aus Cholesterinäthern bestehen. Mit Osmiumsäure färben sich diese Körnchen nicht direkt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Mawas, J., et **Magitot, A.,** Étude sur le développement du corps vitré et de la zonule chez l'homme (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 41—144 av. 7 pl.).

Das Material umfaßte eine ganze Reihe von menschlichen Embryonen von der vierten Woche bis zum Neugeborenen. Vervollständigt wurde die Studie durch Untersuchungen an dem Auge des neugeborenen Kindes und des erwachsenen Menschen. Im ganzen handelte es sich um etwa 120 verschiedene Präparate. Zum Vergleiche wurden untersucht Augen von Embryonen und erwachsenen Tieren sehr verschiedener Arten vom Neunauge bis zu den Primaten. Die Eigenart des Glaskörpers und die beträchtliche Menge von Wasser, die in ihm enthalten ist, machen seine Fixierung schwierig. Das in der Flüssigkeit enthaltene Eiweiß macht ferner einen sofortigen Niederschlag nötig, da sonst eine starke Schrumpfung und Zerstörung des Aufbaues der Fasern unvermeidlich sind, auch wenn die umgebenden Gewebe gut fixiert sind. Aus diesem Grunde ergeben die Flüssigkeiten von Zenker und von Tellyesniczky, das Kaliumbichromat-Formol usw. weniger gute Resultate als andere Fixierungsmittel, welche die Eiweißstoffe des Glaskörpers vollständiger niederschlagen. Solches sind: die Formol-Pikrinsäure-Essigsäure-Mischung von Bouin (Pikrinsäure in gesättigter wässeriger Lösung 30 Vol.-T., kristallisierte Essigsäure 2 Vol.-T., Formol 10 Vol.-T.) und die Pikrinsäure-Sublimat-Mischung von Mann mit oder ohne Zusatz von Formol. Ferner ergeben sehr gute Resultate: Osmiumsäuredämpfe, Altmannsche Mischung, Flemmingsche Flüssigkeit bei sehr langer Einwirkung. Trotzdem ziehen die Verff. die erstgenannten Flüssigkeiten vor, da die letztgenannten bei der Färbung Schwierigkeiten machen. — Die kleinen Embryonen wurden im ganzen fixiert und erst von einer Länge von 110 mm (dritter Monat) an wurde das Auge allein in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Vom vierten Monate an wurden stets ein oder zwei Öffnungen in den Augapfel gemacht, um das Eindringen der Flüssigkeiten zu erleichtern. In allen Fällen, in denen das Organ so zart war, daß es durch ein frühzeitiges Zerschneiden zerstört worden wäre, wurde eine Calotte stets abgeschnitten vor dem Auswaschen in Wasser bei Präparaten, die in Chromsäure fixiert waren, und vor der Entwässerung durch Alkohol in den übrigen Fällen. Die Verff. heben die absolute Notwendigkeit hervor, bei der Untersuchung des Glaskörpers so langsam wie möglich zu entwässern, wegen der großen Neigung desselben zur Schrumpfung. Leider ist in manchen Stadien eine solche Schrumpfung trotz aller Vorsicht fast unvermeidlich. — Einbettung: Die kleinen Embryonen wurden ganz in Paraffin eingebettet und in Serienschnitte zerlegt. Die Augen der etwas größeren Embryonen wurden für sich so behandelt. Vom

dritten Monat an wurde in Zelloïdin eingebettet. Dabei wurden aber meistens ein oder mehrere Stücke in Paraffin eingebettet nach Befreiung von dem Zelloïdin durch Azeton oder Alkohol-Äther. Bei der Untersuchung des Glaskörpers wirkt übrigens Zelloïdin günstiger, da die Wärme sehr viel eher zu Schrumpfungen führt. — Färbung: Es wurden recht verschiedene Färbungen angewendet: die Fibrillen des Glaskörpers und der Zonula nehmen im allgemeinen die verschiedenen Plasmafarbstoffe gut an, aber auch Kernfarbstoffe, so z. B. Säurefuchsin, Safranin, Magenta, Eisenhämatoxylin färben diese Fibrillen. Man kann zu ihrer Färbung sowohl saure wie basische Farbstoffe verwenden mit mehr oder weniger langer Färbungsdauer. Auch einige „elektive" Färbungen tingieren mitunter, sogar stark, diese Fibrillen. So z. B. die Färbungen für die elastischen Fasern, für die kollagenen Fasern und für die Neurogliafasern. Auf die Beschaffenheit der Fibrillen darf man hieraus aber keinen Schluß ziehen. Dieses Verhalten ist dasselbe bei Embryonen und Erwachsenen. Bestimmte Methoden ergaben nun besonders gute Resultate, so z. B. die von Mallory für die Färbung des Bindegewebes und das Hämatoxylin mit Phosphormolybdänsäure desselben Autors. Das Eisenhämatoxylin von Heidenhain nach vorheriger Beizung für 24 Stunden in der sauren Alaunlösung von Regaud (Eisenalaun, 4prozentige Lösung, 100 Vol.-T., Schwefelsäure 1 Vol.-T.) ergab auch ausgezeichnete Resultate. Die Verff. haben infolgedessen hauptsächlich die drei letzten Methoden benutzt. *Schiefferdecker (Bonn).*

C. Mikroorganismen.

Minder, L., Über morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkelbazillen vom Typus gallinaceus unter spezieller Berücksichtigung der Granula (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **77**, 1915, H. 2, p. 113—130).

Um über die Granula der Erreger der Vogeltuberkulose ins klare zu kommen, färbte Verf. sein Material nach folgenden Methoden bzw. Modifikationen:

1) Methode nach Ziehl-Neelsen. Die Ausstrichpräparate werden getrocknet und fixiert, mit Karbolfuchsin 2 bis 3 Minuten über der Flamme gefärbt, mit verdünnter Salpetersäure (1 : 4) 10 bis 30 Sekunden lang entfärbt und mit 60prozentigem Alkohol übergossen, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird. Wasserspülung. Nachfärbung mit Methylenblau.

2) Gram-Methode II nach Much. 10 cc gesättigte alkoholische Methylviolettlösung und 100 cc 2prozentige Phenollösung

werden gemischt und filtriert. Hiermit werden die Präparate erwärmt bis zur Dampfbildung. Nach 3 Minuten Lugolsche Lösung, die man 3 bis 5 Minuten einwirken läßt. Entfärbung mit 5prozentiger Salpetersäure 10 bis 15 Sekunden — oder mit 3prozentiger Salzsäure 5 Sekunden lang. Die von Much noch eingeführte Modifikation — Aufenthalt der Präparate 1- bis 3mal 48 Stunden in der Methylviolettlösung bei Zimmertemperatur, 10 bis 12 Minuten Lugolsche Lösung, 1 Minute 5prozentige Salpetersäure und 10 Sekunden 3prozentige Salzsäure — gab bei dem Material des Verf. keine besseren Resultate.

Die Färbungen mit Methode 1 und 2 ergaben, daß die sogenannten Muchschen Granula auch nach Ziehl-Neelsen färbbar sind, daß ihre Substanz, wie Verf. folgert, mit der säurefesten, nach Ziehl darstellbaren identisch ist. Nach Gram-Much gefärbt zeigen sich die Bazillen in der Hauptsache als eine Kette von dunkelblauen oder schwarzen Granulis, der Rest der Zelle ist als schwacher Schatten erkennbar oder überhaupt unsichtbar. Nach Ziehl gefärbt zeigen die Zellen zwar auch die Granula, das übrige ist aber in verschieden hohem Grade mitgefärbt. Bei den Bazillen vom Typus humanus und bovinus sind die Muchschen Granula nach Ziehl nicht färbbar: „Ich erkläre mir dies so, daß dort eben in erster Linie die Hülle den Farbstoff verankert und die Säurefestigkeit bedingt, und somit keinen Einblick in das Innere der Bazillen gewährt.“

Kombination der Gram- oder Ziehl-Methode mit Burris Tuscheverfahren gelang gut: die Ziehl-Färbung mußte dabei in der Weise modifiziert werden, daß die fixierten Präparate 20 Minuten mit dem heißen Karbolfuchsin in Kontakt blieben. Bei einiger Übung gelingt es, die Bazillen echt zu färben und dann mit Tusche zu behandeln. Alle Granula, wie sich hierbei zeigen ließ, liegen in stäbchenförmigen Zellen; einzelne Granula, den die Eindruck von Sporen machten, konnten nicht gefunden werden.

Namentlich an den Ziehl-Präparaten konnte gut gezeigt werden, daß die Säurefestigkeit der Vogeltuberkelbazillen große Schwankungen aufweist.

Versuche mit der Möllerschen Sporenfärbung führten zu kräftiger Granulafärbung; die Möllersche Sporenfärbung ist im Grunde nichts anderes als eine modifizierte Ziehl-Färbung.

Verf. versuchte die Granula aus den Zellen herauszulösen — durch mechanisches Zerreiben der Zellen und durch Lösung der fetthaltigen Hülle und des Periplasmas. Als Lösungsmittel dienten dem Verf. Alkohol, Äther, Xylol, Wasserstoffsuperoxyd, Kalilauge und Salpetersäure; hiernach Färbung nach Ziehl oder Gram-Much. Isolierung der Granula gelang nicht.

3) Die Gasis-Färbung — und zwar die frühere der beiden von Gasis ausgearbeiteten Methoden — wurde folgendermaßen angewandt: Färben in 5 cc einer 1prozentigen Eosinlösung, die mit einem linsen-

großen Stück Quecksilberchlorid bis zur völligen Sättigung aufgekocht wurde. Färbung erheblich länger als 2 Minuten, wie von Gasis angegeben. Abspülen mit Wasser. Entfärben in

Natriumhydroxyd	0·5	g
Kaliumjodid	1·0	„
Alkohol, 50prozentiger	100	cc

bis die rote Farbe durch eine weißlichgrüne ersetzt ist. Abspülen mit Alkohol absolutus, dann mit Wasser, einige Sekunden Nachfärben mit

Methylenblau, kristallisiertes	1	g
Alkohol absolutus	10	cc
Salzsäure	0·5	„
Aqua destillata	90	„

Die Farblösung wird jedesmal vor Gebrauch frisch bereitet und aufgekocht, das Präparat mit der heißen Lösung übergossen und die nötige Zeit stehen gelassen. Die Stäbchen färben sich leuchtend rot. Granula werden nicht sichtbar. — Verf. nimmt an, daß dieses negative Resultat durch eine zu starke Färbung der Hülle sich erklärt. Mit Tusche überzogene Präparate ließen im Gegensatz zur Ziehl-Färbung erkennen, daß stets verhältnismäßig wenig ungefärbte Stäbchen vorkommen; der Tuberkelbazillus gallinaceus verhält sich also in seiner Festigkeit gegen NaOH regelmäßiger als in der Säurefestigkeit.

4) Pikrinsäuremethode nach Spengler. — Das Präparat wird mit gewöhnlichem Karbolfuchsin (Ziehl) übergossen, in der Flamme erwärmt, nach Dekantierung mit Pikrinsäure-Alkohol (Essbachs Reagens und absoluter Alkohol zu gleichen Teilen) übergossen. Nach einigen Sekunden Waschen mit 60prozentigem Alkohol und Entfärbung mit 15prozentiger Salpetersäure (10 bis 15 Sekunden). Kontrastfärbung mit Pikrinsäure-Alkohol. Die Resultate stimmen im wesentlichen mit den nach Ziehl erhaltenen überein, auch hinsichtlich der Säurefestigkeit.

5) Giemsa-Färbung. — Käufliche Giemsa-Lösung wird auf $^1/_5$ der ursprünglichen Konzentration mit Aqua destillata verdünnt; die Objekte werden über der Flamme fixiert und mehrere Stunden gefärbt; hiernach gründliches Auswaschen mit Wasser. An einem oder an beiden Enden der Stäbchen sind je ein dunkelblaues Körnchen erkennbar. Seine nähere Prüfung führte zur Anwendung der

6) Diphtheriebazillenfärbung nach Neisser auf Tuberkelbazillen: Färbung mit essigsaurem Methylenblau (nach Neisser) 1 Stunde, gründliche Wasserspülung. Nachfärben mit Bismarckbraun $^1/_2$ Stunde. Auf diese Weise ließen sich dieselben Körner, die nach Giemsa sich färben, sichtbar machen. Vielleicht sind sie identisch mit den von Nakanishi beobachteten Polkörnern (vitale Tuberkelbazillenfärbung); bei humanus und bovinus erhielt Verf. zwar deutliche Polfärbung, fand aber keine Körner.

Küster (Bonn).

D. Botanisches.

West, C., a. Lechmere, A. E., On chromatin extrusion in pollen mother-cells of Lilium candidum Linn. (Ann. of bot. vol. **29**, 1915, no. 114, p. 285—291 w. 1 pl.).

Die Verff. fixierten ihr Untersuchungsmaterial in Chrom-Osmium-Essigsäure (stärkere Konzentration der Flemmingschen Lösung), in Hermannscher Flüssigkeit oder in Eisessig-Alkohol (1 Teil Eisessig: 3 Teilen absoluten Alkohol). Zum Färben dienten Flemmings Dreifarbengemisch — Heidenhains Hämatoxylin nebst Gegenfärbung mit Bordeaux-Rot oder Orange G — Safranin — Gentianaviolett und Orange G — Methylenblau-Safranin — Orange-Tannin nach Breinl. — Die Zellwände wurden mit Methylenblau, Rutheniumrot oder Kongorot gefärbt. *Küster* (*Bonn*).

Woolery, R., Meiotic divisions in the microspore mothercells of Smilacina racemosa [L.] Desf. (Ann. of bot. vol. **29**, 1915, no. 116, p. 471—482 w. 1 pl. a. 1 fig. in the text).

Fixiert wurde mit Chrom-Essigsäure und Flemmingschem Gemisch, beide in den stärkeren Modifikationen. Besonders gute Kernbilder erhielt die Verf., indem sie die mit Chrom-Essigsäure fixierten Objekte mit Gentianaviolett-Nelkenöl nach Pickett färbte: man fertigt sich diese Farblösung an, indem man zu einer gesättigten Lösung von Gentianaviolett in absolutem Alkohol das gleiche Volumen Nelkenöl schüttet und hiernach bei Zimmertemperatur aus einer offenen Schale den Alkohol verdunsten läßt; hiernach wird die Lösung filtriert. Die Präparate werden zunächst mit Safranin gefärbt, hiernach gewaschen, bis die gewünschte Intensität erreicht ist, dann mit absolutem Alkohol überspült und mit Gentianaviolett-Nelkenöl bedeckt. Dieses soll 20 Minuten bis 3 Stunden wirken; zuweilen mußte die Verf. die Behandlungsdauer auf 6 Stunden steigern. Hiernach werden die Präparate mit Benzol oder Xylol gewaschen und mit Orange G-Nelkenöl behandelt. Wenn Membranfärbung nicht erzielt werden soll, differenziert man nach 10 bis 15 Minuten währender Orange G-Behandlung mit reinem Nelkenöl. Das Orange G-Nelkenöl wird mit Benzol oder Xylol gründlich entfernt, hiernach Montierung. Nach der Behandlung mit Gentianaviolett-Nelkenöl dürfen die Präparate nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen. *Küster* (*Bonn*).

Molisch, H., Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze. Nr. 4: Über organische Kalkkugeln und über Kieselkörper bei Capparis (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **34**, 1916, H. 3, p. 154—160).

In den Parenchymzellen der Blattstiele von Capparis callosa und bei andern Capparis-Arten fand Verf. farblose, stark lichtbrechende Inhaltskörper (8 bis 10 μ Durchmesser). Verf. gibt das Verhalten der Körper gegenüber verschiedenen Reagentien an und kommt zu dem Resultat, daß es sich bei ihnen um ein Kalksalz handele. Besonders auffallend ist das Verhalten der Kugeln gegenüber Oxalsäure. In 5prozentiger Lösung nehmen sie eine schmutzige Färbung an, werden trübe und lösen sich; gleichzeitig entsteht um jede Kugel eine granulierte, geschlossene, höckerige Haut, die nach Art der Traubeschen Zellen wächst. Ganz ähnliche Niederschlagsmembranen entstehen nach den Beobachtungen des Verf. bei Behandlung von Zystolithen mit 5prozentiger Oxalsäurelösung, ferner aus den Kalkkonkretionen der Chara, aus Kreide und aus Marmor; die Niederschlagsmembranen bestehen offenbar in allen Fällen der Hauptsache nach aus oxalsaurem Kalk.

Werden Schnitte auf dem Platinblech erhitzt, so schwärzen sich die Kugeln. Bei stärkerem Erhitzen blähen sie sich auf, verlieren ihre schwärzliche Färbung und erscheinen im auffallenden Licht schneeweiß. Welche organische Säure bei dem vorliegenden Objekt beteiligt ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Der Umstand, daß die Kugeln sich beim Erhitzen aufblähen, spricht für Apfelsäure. Die Tatsache, „daß sich die intakten Kugeln sowohl in gesättigter saurer als auch neutraler apfelsaurer Kalklösung lösen, spricht gegen die Anwesenheit dieser Salze. Es wäre aber doch möglich, daß Apfelsäure vorliegt; denn sie könnte ja als Doppelsalz vorliegen, vielleicht gebunden an Kalk und Magnesia.“ Da wir kein lokalwirkendes mikrochemisches Reagens auf Mg besitzen, konnte diese Frage zunächst nicht entschieden werden. —

Neben den beschriebenen Kalkkugeln treten Kieselkörper auf; sie lassen nach dem Glühen einen organischen Kern erkennen, enthalten also organische Substanz. *Küster (Bonn).*

Fünfstück, M., u. Braun, R., Zur Mikrochemie der Droseraceen (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **34**, 1916, H. 3, p. 160—168).

In Schnitten, die durch Wurzel oder Blattstiele von Drosera binata gelegt werden, wurden gelbliche Kristallnadeln gefunden; intakte Zellen enthalten keine Kriställchen. Fast immer sahen die Verff. solche auftreten, wenn die mit dem Deckglas bedeckten Wasserpräparate langsam trockneten, ohne völlig trocken zu werden, oder wenn Schnitte in kleinere Wassertropfen verbracht und diese bei Zimmertemperatur der langsamen Verdunstung überlassen wurden. Die Mikrosublimationsmethode gestattete die Gewinnung der Substanz, über deren chemische Natur sich zunächst noch nichts ermitteln ließ. — Auch in Dionaea tritt der fragliche Stoff auf, ist aber mit dem von Molisch in dieser Gattung gefundenen gerbstoffartigen Körper nicht identisch. *Küster (Bonn).*

Meyer, A., Die Allinante. Zugleich eine Antwort auf die Darstellung von Guilliermond im **32**. Bande dieser Berichte S. 282 (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. **34**, 1916, H. 3, p. 168—173).

Unter Anten (Singular: das Ant, die Ante) versteht Verf. Massenteilchen, die für das unbewaffnete Auge unsichtbar, mikroskopisch aber sichtbar sind. Allinante sind ergastische Gebilde der Zelle, welche aus einem Allin, einem Körper aus der Gruppe der Alline, bestehen. Sie geben folgende mikrochemische Reaktionen:

3prozentige Salpetersäure, Pikrinsäure (wässerige Lösung), Jodjodkalium, Osmiumsäure, Formaldehyd fixieren ohne Kontraktion.

Siedendes Wasser, Alkohol und Quecksilberchlorid fixieren unter Kontraktion und Deformation.

Jodjodkalium und Pikrinsäure färben.

2prozentige Kalilauge und Eau de Javelle lösen.

Pepsin greift bei 40° nicht an, Trypsin greift bei 20° die Allinante viel langsamer an als die Substanz der Zellkerne.

Schwefelwasserstoff färbt das Allin der Moose und der Monokotyledonen grau.

Vermutlich bestehen die Allinante im wesentlichen aus einem Eisennukleïn. Sie sind ergastische Gebilde, ergrünen niemals im Lichte und erzeugen niemals an sich Stärkekörner.

Allinante sind schon wiederholt beschrieben, verschieden benannt und mit Gebilden anderer Art verwechselt worden. Die als Chondriosomen beschriebenen Gebilde sind zum Teil Allinante, zum Teil Chromatophoren (Trophoplasten) oder gar (Guilliermond) junge Zellsaftvakuolen. Diese Verwechslungen erklären die irrtümliche Auffassungen, die über die Genese der Chromatophoren und Anthocyanvakuolen geäußert worden sind. *Küster (Bonn).*

Fornet, A., Dauerpräparate von Brot und Mehl D. R. P. a. nach Dr. Fornet (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen Bd. **7**, 1915, p. 261—263 m. 2 Figg.).

Daß man durch Ausfüllung der Poren mit Paraffin etwas konservieren kann, soll auch den Getreidefachleuten durch dieses angemeldete Patent bekanntgegeben werden.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Mügge, O., Zur Kenntnis der Einlagerungen von Eisenerzen in Glimmer und einiger Eigenschaften des Goethit (Neues Jahrb. f. Min., Geol. u. Pal. Bd. **1**, 1916, p. 55—70 m. 2 Figg. u. 4 Tfln.).

In gewissen Glimmern, z. B. von Madras, findet man Eisenglanz, Magnetit, Goethit und kolloides Eisenhydroxyd in geradezu vollendeter Form für die mikroskopische Untersuchung von der Natur selbst vorbereitet. Wenn man nämlich den Muskovit spaltet, so erhält man gewissermaßen „Deckglaspräparate" dieser Eisenerze. Denn letztere haben sich (wenn es sich nicht um gröbere Einschlüsse handelt) erst nach Entstehung des Glimmers selbst ausgebildet. Sie bestehen also aus äußerst dünnen Lagen zwischen zwei Spaltplättchen.

Was hier besonders studiert wird, ist der allmähliche Übergang des kolloiden Eisenhydroxyds in die wasserärmeren, kristallinen Formen. Das Gel erscheint vielfach als kreisrunde gelbe, bräunliche oder rote Scheibchen von bis 0,03 mm Durchmesser. Im unveränderten Zustand ist es strukturlos oder nur mit Andeutungen von konzentrischschaligem Aufbau, völlig isotrop, also abgeplatteten Tröpfchen gleichend. An verschiedenen Stellen der Präparate kann man verfolgen, wie sich sternförmige Kristallsysteme von Goethit (zusammengesetzt aus doppelbrechenden Fäserchen) aus diesen Gelscheiben bilden. Seltsamerweise beginnt diese Kristallisation nicht an der Peripherie der Scheibchen, sondern in deren Mittelpunkt. Denn sonst könnten bei einem Zusammenstoßen von zwei Scheibchen nicht doch die einzelnen Kristallfasern radial angeordnet sein. Zuweilen ist nur eine Hälfte des Scheibchens schon kristallin, die andere noch kolloid.

Auch an den Magnetitaggregaten kann man zuweilen erkennen, daß sie aus Gel hervorgegangen sind, nämlich dann, wenn sich die für letzteres charakteristischen Sprungsysteme darin zeigen.

Beim Goethit sowohl, wie auch beim Magnetit kann sich ein Einfluß des Glimmers auf die Art der Kristallbildung geltend machen. Es erinnert dies einigermaßen an die Orientierung der Lehmannschen flüssigen Kristalle zur Oberfläche des Glases.

Bez. der Herkunft der Erzteilchen glaubt Verf., daß sie wenigstens zum Teil dem Glimmermaterial selbst entstammen. (Das wäre also trotz der Kleinheit der Abmessungen eine Lateralsekretion in die minimalen Räume geringeren Widerstandes zwischen den Plättchen. Oder darf man zugleich an eine Äußerung einer Selbstreinigung während des Kristallinwerdens denken? Ref.) Die Bleichungsvorgänge des Glimmers werden hierfür verantwortlich gemacht. Daß dabei auch farblose Zersetzungsprodukte entstehen und zu derartiger Abscheidung gelangen, ist sehr wahrscheinlich. Aber diese werden sich, soweit sie amorph bleiben, selbst der mikroskopischen Beobachtung leicht entziehen.

Ref. möchte darauf aufmerksam machen, daß sich auch bei den Achaten die Übergänge von kolloiden Eisenverbindungen in kristalline oft wundervoll verfolgen lassen. Was sich zwischen den einzelnen Chalzedonschichten ablagert, hat allerdings meist dendritische Formen.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Endell, K., u. Hanemann, H., Über die optische Orientierung einiger Metallschmelzen (Zeitschr. f. anorgan. Chem. Bd. **83**, 1913, p. 267—274).

Eine der wenigen Anwendungen eines von J. Koenigsberger angegebenen Verfahrens. Dasselbe gründet sich auf folgende Tatsachen: Auch bei einer undurchsichtigen anisotropen Substanz gelingt es, die Anisotropie im reflektierten Licht festzustellen. Das senkrecht auffallende natürliche Licht wird in zwei reflektierte, senkrecht zueinander schwingende Komponenten zerlegt. Diese können sowohl der Amplitude als der Phase nach verschieden sein. Eine in den Strahlengang gebrachte doppelbrechende Platte, die empfindliche Savart-Doppelplatte, macht die Verschiedenheit der Amplitude oder der Intensität des reflektierten Lichtes sichtbar. Beim Durchgang polarisierten Lichtes zeigt diese farbige, bei monochromatischem Licht schwarze Interferenzstreifen, die mittels Fernrohres scharf eingestellt werden.

Eine isotrope Metallfläche, z. B. ein Platin- oder Eisenspiegel, auf den man mittels eines Vertikalilluminators natürliches Licht fallen läßt, reflektiert natürliches unpolarisiertes Licht. Die Savart-Platte zeigt dann (wenn eine elliptische Polarisation durch schiefen Einfall vermieden wurde) keine Streifen. Wird dagegen Licht an einem anisotropen Metall, z. B. einem Zink- oder Wismutspiegel, reflektiert, so ist die Intensität der einen Schwingungsrichtung größer als die der anderen. Infolge des teilweise polarisierten Lichtes sieht man mit Fernrohr und Analysatornikol schwache Interferenzstreifen in der Savart-Platte. Beim Drehen des Präparates verschwinden sie, wenn eine der Schwingungsrichtungen der Metallfläche mit der des Analysators 45° bildet. In der 0- und 90°-Stellung sind sie natürlich am deutlichsten.

Die Verschiedenheiten des Reflexionsvermögens werden gemessen durch Drehen einer Glasplatte, die sich zwischen dem total reflektierenden Prisma und der Savart-Platte befindet. An einer mit bekannten Mineralien empirisch geeichten Skala liest man die Zeigerstellung ab, bei der gerade Kompensation der Anisotropie für die Nullage der Schwingungsrichtungen in der reflektierenden Fläche erfolgt. Eine Tabelle erlaubt für jede Zeigerstellung die Größe der Anisotropie direkt abzulesen.

Nach dieser Methode haben die Verff. die optische Orientierung einiger schnell erstarrter Schmelzen der anisotropen Metalle Zink, Antimon, Wismut und Zinn bestimmt. Die Schliffe wurden mit Pariserrot und bei weicheren Metallen mit Tonerde poliert. Im Gegensatz zu den üblichen metallographischen Verfahren ist hier eine Ätzung der Schliffe nicht erlaubt, da die dabei entstehenden Unebenheiten infolge schiefen Lichteintritts Polarisationserscheinungen hervorrufen würden. Gleichgerichtete Streifensysteme würden durch Erzeugung von Gitterpolarisation irreführen. Auch eine rauhe Oberfläche infolge zu langen

Polierens (Reliefpolitur) macht den Schliff für diese Untersuchungsart ungeeignet.

Waren die untersuchten Metalle bei ungestörter Abkühlung erstarrt, so zeigten sich die Zink- und Antimonkristalle gleichmäßig orientiert. Wie bei dem in Seen gebildeten hexagonalen Eis stehen die optischen Achsen senkrecht zur Abkühlungsfläche. Bei Wismut- und Zinnschmelzen wurde eine solche regelmäßige Orientierung nicht beobachtet. Primäre Ausscheidungen dieser Metalle in Eutektiken waren zum Teil optisch orientiert, zum Teil ungeordnet.

Liesegang (*Frankfurt a. M.*).

Rinne, F., Beitrag zur optischen Kenntnis der kolloidalen Kieselsäure (Neues Jahrb. f. Min., Geol. u. Pal. Beil.-Bd. **39**, 1914, p. 388—414).

Die optischen Unterschiede einer sehr interessanten Reihe werden hier festgestellt. Es sind die Gele der Kieselsäure, welche mit dem wasserfreien Quarzglas beginnen und mit den künstlich erzeugten wasserreichen Kieselsäuregallerten enden. Dazwischen liegen Obsidian, Moldavit, Hyalith und die Opale. Die Untersuchungen erstrecken sich auf den Temperaturbereich von — 170° bis + 1000° bei Quarzglas, + 600° bei den vulkanischen und meteorischen Gläsern, + 240° beim Hyalith, + 58° beim Edelopal.

Mit steigender Temperatur wird bei den wasserfreien und wasserarmen Gläsern die Lichtbrechung eine stärkere. Auch bei den wasserreicheren ist eine anfängliche Zunahme vorhanden, von + 2° bis + 16° bleibt sie dann aber fast gleich. Nach diesem Maximum fällt sie wieder. Verf. vermutet, daß sich hier das bekanntlich bei + 4° liegende Dichtemaximum des Wassers äußert.

Eine andere Versuchsreihe betrifft das Kieselsäuregel, welches entsteht, wenn man aus einem dunklen Glimmer durch „Baueritisierung“, d. h. durch Säurebehandlung, alle basischen Bestandteile entfernt. Die allein als Hydrogel zurückbleibende Kieselsäure behält äußerlich die Kristallform des Glimmers. Es war von prinzipieller Bedeutung, ob sich hiermit nach dem Laueschen Verfahren Punktdiagramme der durchgehenden Röntgenstrahlung erhalten ließen. Zwar ergab sich ein negativer Erfolg. Aber Verf. betont, daß das Ausbleiben des Laue-Effekts nicht gleichbedeutend mit dem Fehlen von Kristallstruktur ist. Die Fähigkeit, beim Auftreffen des Röntgenlichtes Sekundärstrahlen auszusenden, deren Intensität beobachtet wird, kommt den wechselnden Stoffen in verschieden starkem Maße zu. Außerdem hängt der Effekt, wie die Versuche von Debye und Laue mit erhitztem Steinsalz zeigten, sehr von dem Grade der Beweglichkeit der kleinsten Teilchen ab. Wenn nun das baueritische Kieselsäuregel schon bei gewöhnlicher Temperatur keine regelmäßige Interferenzerscheinung zustande kommen läßt, so kann dies damit zusammenhängen, daß bei diesem strukturell außerordentlich gelockerten Material

die Bewegungsfreiheit der Teilchen auch in niederen Wärmegraden schon eine zu hohe ist.

Würde sich bei einem solchen Gel doch einmal, z. B. bei starker Abkühlung, ein LAUE-Effekt nachweisen lassen, so würde das eine schöne Stütze für die jetzt öfter gehörte Warnung sein, daß man das Kolloide und das Amorphe nicht ohne weiteres identifizieren darf. — Wie werden sich übrigens dichtere Pseudomorphosen verhalten? Z. B. die Umwandlungspseudomorphosen von Zinkspat nach Kalkspat oder die Verdrängungspseudomorphosen von Flußspat nach Quarz? Hier kann die Beweglichkeit keine so große sein. Soweit Ref. bekannt, liegen derartige Untersuchungen noch nicht vor.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Laue, M. v., u. Lingen, J. St. van der, Experimentelle Untersuchungen über den DEBYE-Effekt (Physikal. Zeitschr. Bd. **15**, 1914, p. 75—77).

Die Interferenzpunkte, welche man bei der Röntgendurchstrahlung eines Steinsalzkristalls bei gewöhnlicher Temperatur erhält (vgl. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. **30**, 1913, p. 402), verschwinden, wenn der Kristall auf 320° erhitzt wird. Diese von DEBYE gefundene Tatsache wird hier bestätigt. Die allzugroßen Wärmeschwingungen der Atome des Kristalls verwischen die Gitterwirkung. (Wird man jemals zu einer Röntgenkinematographie dieser Atomschwingungen kommen? Ref.) Wenn dagegen auch bei einer Abkühlung des Kristalls auf — 190° die Interferenzpunkte wieder schwächer werden, so wollen die Verff. dies auf eine Absorption zurückführen.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Rinne, F., Die Kristallwinkelveränderung verwandter Stoffe beim Wechsel der Temperatur. I. (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Pal. 1914, p. 706—718 m. 9 Figg.).

Der zu dieser Untersuchung verwandte Goniometer ist mit einer Heiz- und einer Kühlvorrichtung versehen. Die Diagramme der rhomboedrischen Karbonate im Temperaturintervall von — 165° bis + 596° C lassen über 0° eine fast geradlinig ansteigende, unter 0° sich ein wenig verflachende Kurve der Winkelverschärfung der Polkante des Spaltrhomboeders erkennen. Die Kurve ist am steilsten beim Kalkspat, nämlich 9·1′ auf je 100°. Dann folgen Manganspat, Dolomit, Eisenspat.

Beim Albit ist die thermische Veränderung des Winkels P : M größer als beim Labrador und bei diesem größer als beim Anorthit.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Glocker, R., Interferenz der Röntgenstrahlen und Kristallstruktur (Ann. d. Phys. [4.] Bd. **47**, 1915, p. 377 —428).

Zur Erzeugung des Röntgeninterferenzbildes eines Steinsalzkristalls wird hier die Strahlung benutzt, welche schon einen richtig orientierten Steinsalzkristall passiert hat. In diesem sekundären Lauegramm erschienen nicht alle jene Interferenzpunkte, welche auf dem primären sichtbar geworden wären, sondern nur diejenigen, welche mit der ausgesandten Wellenlänge bzw. deren erstem Oberton übereinstimmen.

Während die von der Röhre ausgehende Strahlung ein Gemisch von zahlreichen Wellenlängen, also gewissermaßen „weiß" ist, ist die oben benutzte, also in einem Kristallraumgitter abgebeugte Röntgenstrahlung eine monochromatische. Die Verwendung des letzteren ermöglicht den direkten Vergleich der Gitterkonstanten zweier Kristalle. Verf. bestimmt auf diese Weise die Unterschiede der Raumgitter von Steinsalz, Sylvin, Bromkalium und Flußspat.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Oberhoffer, P., Einige Beobachtungen über die sogenannte Zeilenstruktur (Stahl u. Eisen 1913, No. 38 m. 1 Tfl.).

Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß im gegossenen und durch zweckmäßiges Glühen normalisierten Flußeisen und Stahl die Gefügebestandteile bei jeder Schnittlage gleichmäßig angeordnet sind. In hocherhitztem Zustand durch Schmieden, Walzen, Pressen formveränderte Materialien zeigen jedoch je nach der Schnittrichtung verschiedene Anordnungen. Es müssen drei zueinander senkrechte Richtungen unterschieden werden. Die „Streckrichtung" ist diejenige, in welcher die Längung erfolgte. Hand in Hand damit geht eine Zusammenziehung bzw. eine Breitung, kurz, eine Veränderung der Querabmessungen des Materials. Senkrecht zur Längungs- und Breitungsrichtung wird der Druck ausgeübt, der die Formänderung hervorruft; das ist die Druckrichtung. Es sind also drei verschiedene, besonders gekennzeichnete Schnitte möglich:

1) Senkrecht zur Längsrichtung und parallel zur Druck- und Querrichtung (= Querschnitt).

2) Senkrecht zur Druckrichtung und parallel zur Längs- und Querrichtung (= Flachschnitt).

3) Senkrecht zur Querrichtung und parallel zur Längs- und Druckrichtung (= Längsschnitt).

Bei kreisförmigem Querschnitt, z. B. bei Drähten und Rundeisen, sind Längs- und Flachschnitt gleichwertig.

Häufig zeigen die so behandelten Gegenstände ein mikroskopisches Gefüge, das man Zeilenstruktur nennt. Ferrit und Perlit sind dabei in parallelen Bändern oder Zeilen angeordnet. Auch in den Perlit und Zementit enthaltenden übereutektoidischen Stählen tritt dies Gefüge auf, nicht dagegen in eutektoidischen Stählen, welche nur aus Perlit aufgebaut sind.

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die Zeilenstruktur durch die Schlackeneinschlüsse bedingt ist, welche sich bei fast allen technischen Eisensorten finden. Diese üben bei der Ferritbildung eine Keimwirkung aus. Im Gegensatz zu den endgültigen Gefügebestandteilen Ferrit und Perlit sind die Schlackeneinschlüsse während des Formänderungsvorganges bereits als solche vorhanden. Da sie eine gewisse Plastizität besitzen, paßt sich ihre Form der Art der Formänderung an. Ein Walzdraht zeigt z. B. in der Streckrichtung langgezogene Einschlüsse, die senkrecht dazu, d. h. im Drahtquerschnitt, punktförmig auftreten. Haben die Schlackeneinschlüsse zur Zeit der Ferritbildung Gelegenheit, ihre Keimwirkung auszuüben, so folgen die Ferritausscheidungen in ihren äußeren Formen der Form der Schlackeneinschlüsse. Der Walzdraht besitzt dann im Längsschnitt die erwähnte zeilenförmige, im Querschnitt körnige Struktur.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Baucke, H., Über einige neue mikrographische Beobachtungen beim Kupfer (Intern. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. **4**, 1913, p. 155—166 m. 10 Figg.).

Es werden prinzipielle Bemerkungen über die Feststellung von Korngröße und Kornzahl beim mikrographischen Studium der Metalle gemacht. Und zwar hier deshalb, weil die Dimensionen der Körner (Einzelkristalle) bei dem gleichen Kupferpräparat sehr verschieden sein können. Jedenfalls sind sie viel ungleichmäßiger als beim Flußeisen.

Die wahren Dimensionen eines Korns lassen sich unter dem Mikroskop schwer feststellen, da man nur Schnittflächen beobachtet. Am vorteilhaftesten ist es, wenn man das Präparat mit seiner Walzrichtung parallel zu dem horizontalen Kreuzdraht legt und nun zählt, wieviel Körner man von links nach rechts und von oben bis unten durchläuft. Man wiederholt diese Messung 10- bis 12mal an verschiedenen Stellen und erhält schließlich aus Messungen von 200 bis 250 Körnern einen ziemlich genauen Mittelwert für die Hauptdimensionen. Wenn irgend möglich, sollten bei vergleichenden Bestimmungen die Vergrößerungen so bemessen sein, daß man mindestens 10 Körner im Gesichtsfelde hat.

Die Umrisse der Körner müssen durch Ätzung deutlich bloßgelegt sein. Hierbei ist das Maß der Vergrößerung von Einfluß. Dieses Moment spricht dafür, daß die Vergrößerung nicht zu stark sei.

Immer sollten nur Kernzonen des Materials untersucht und die hierbei gefundenen Zahlen als maßgebend betrachtet werden.

Kupferbleche erscheinen grobkörnig, sobald die Mittelwerte mehr als 200 μ messen. Im überhitzten Blech messen die Körner oft 500 μ. Langdauerndes Erhitzen auf 100° bringt kaltgezogenes Kupfer schon zur Einformung, indem die faserartigen Kristalle sich in darauf senkrecht stehende rechtkantige Individuen umlagern.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Winter, H., Die mikroskopische Untersuchung der Kohle in auffallendem Licht (Glückauf 1913, No. 35, 36 m. 1 Tfl.).

Bisher hatte man die Steinkohle hauptsächlich in durchfallendem Licht mikroskopiert, nachdem die Dünnschliffe vorher nach dem von Gümpelschen Verfahren mit salpetersäurehaltiger Kaliumchloratlösung mehr oder weniger gebleicht worden waren. Hier wird dagegen das Prinzip der Metallographie angewandt, die Struktur also im reflektierten Licht untersucht.

Es erübrigt sich, die ausführlich beschriebene Art der Lichtleitung wiederzugeben, da sie sich nicht von den in üblichen Fällen üblichen unterscheidet. Die Kohleoberflächen werden geschliffen, poliert und gegebenenfalls noch mit Kalilauge geätzt. Bei einigermaßen ebenen Bruchstücken, wie sie sich bei vielen Glanzkohlenarten finden, oder an natürlichen Ablösungsflächen parallel zur Schichtung, sind sogar oft diese Vorbereitungen nicht notwendig. Sie lassen sich wenigstens für die direkte Mikroskopie als solche verwenden. Für die Mikrophotographie ist aber doch eine geschliffene Oberfläche vorzuziehen.

Beim Gagat oder Jet aus dem Posidonienschiefer von Holzmaden zeigte sich die Holzstruktur noch vollkommen erhalten. Eigentümlich gebrochene Linien sind wohl — im Anschluß an eine Vorstellung von Gothan — durch Knickungen zu erklären, welche infolge einer Pressung in der Richtung der Jahresringe entstanden.

In vielen Stein- und Braunkohlenarten zeigten sich Einschlüsse von bernsteinähnlichen Harzen. Es sind wahrscheinlich Sporen.

Als Hauptunterschiede der beiden Kohlenarten, der Humite und Sapropelite, ergeben sich im Hinblick auf die Mikrostruktur für die Glanzkohle die Schichtung und Streifung, für die Mattkohle die mehr oder weniger große Gleichmäßigkeit, die durch die annähernd gleich großen, die ganze Masse erfüllenden, rundlich-eiförmigen zellähnlichen Gebilde hervorgerufen wird. Verf. vermutet, daß es sich bei letzteren um zusammengerottete Pflanzenzellen handelt, die bei der Verkohlung annähernd ihre Form behielten. Daneben befinden sich polyederförmige Reste der Zellhäute. Auf den Schliffen von Humuskohle, z. B. einer Ruhrglanzkohle, zeigen sich oft fremdartige Einlagerungen von schmalen Einschlüssen parallel zur Schichtung. Es handelt sich um Infiltration von Mineralien, die beim Schleifen und Polieren wegen ihrer größeren Härte im Relief stehen blieben und die eventuell auch der Ätzflüssigkeit widerstanden.

In einem anderen Fall war aber ein Kalkspaltstreifen durch die Chloratlösung tiefer geätzt worden. Auf der Mikrophotographie entstand hier infolge der Unschärfe eine Figur, welche auffällig der von C. E. Bertrand (Rapp. du congr. intern. des mines. Liége 1905) beschriebenen Alge „Pila“ gleicht. Auch Gebilde wie dessen „Rein-

schia" konnten auf diese Weise vorgetäuscht werden. Hier ist also dem Mikroskopiker besondere Vorsicht geboten.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Hanemann, H., Metallographische Untersuchung einiger altkeltischer und antiker Eisenfunde (Intern. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. 4, 1913, p. 248—256 m. 10 Figg.).

Eine mikroskopische Untersuchung alter Metallgegenstände, wie die vorliegende, kann sowohl die Altertums- wie die Metallforschung fördern. Der Archäologe erhält Auskunft darüber, welches Material vorliegt, mitunter sogar, wie es hergestellt wurde, wie hoch es erhitzt wurde, wie die sonstige Wärmebehandlung oder die Kaltbearbeitung gewesen ist u. dgl. m. Meist genügt dazu die Herstellung eines Oberflächenschliffs. Es findet sich wohl am Fundstück eine Stelle, wo durch Anschleifen der Altertumswert nicht beeinträchtigt wird. Der Metallograph hat hier die seltene Gelegenheit Aufschluß über die Stabilität der Gefügebestandteile in großen Zeiträumen zu erhalten.

Hadfield hatte 1912 in diesem Sinn ein altindisches Eisen untersucht und die Vermutung ausgesprochen, daß gehärteter Stahl im Laufe der Jahrhunderte seine Härte verliere. Davon war aber an einem nachweisbar vor Christi Geburt hergestellten keltischen Gerät, welches von der Steinsburg bei Römhild stammte, nichts zu bemerken. Vielmehr war es so hart und mit solchem Kleingefüge, als ob die Härtung von gestern wäre. Das Stück muß mit Wasser abgeschreckt worden sein. Bis zu einer Tiefe von 1 mm bestand die Oberfläche aus Martensit. Weiter innen bestand das Gefüge aus Martensit mit zahlreichen Osmonditflecken. Obgleich letztere genügend Kernpunkte für eine Umwandlung dargeboten hätten, hat sich also der Martensit in 2000 Jahren nicht zersetzt. Er ist also bei gewöhnlicher Temperatur nur theoretisch, nicht aber praktisch instabil.

Bei einem römischen Stück aus Schweißeisen zeigte die mikroskopische Untersuchung keine Spur von Schlackeneinschlüssen. Es ist erstaunlich, wie die Alten diese vermeiden konnten.

Liesegang (Frankfurt a. M.).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Brooke, G. E., Aids to tropical medicine. London (Baillière) 1915. 230 pp. 8°. 3·50 M.

Buchka, K. v., Das Lebensmittelgewerbe. Ein Handbuch für Nahrungsmittelchemiker, Vertreter von Gewerbe und Handel, Apotheker, Ärzte, Tierärzte, Verwaltungsbeamte und Richter. Mit zahlreichen Tafeln und Abbildungen. 2 Bände. 8°. Leipzig (Akadem. Verlagsgesellschaft) 1916. 1. Band geb. 40 M.; 2. Band vollst.: 40 M., geb. 42 M.

Geith, H., Kurze Anleitung zur Herstellung pathologisch-histologischer Präparate und Zusammenstellung der gebräuchlichsten Färbemethoden. 48 pp. kl. 8°. München (J. F. Lehmann) 1916. 1·50 M.

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Abderhalden, E., u. Wildermuth, P., Eine selbsttätige Registriervorrichtung für polarimetrische Untersuchung optisch-aktiver Substrate oder solcher, die im Laufe der Umwandlung optisch-aktive Eigenschaften annehmen (Fermentforschung Bd. 1, 1914, p. 63—75 m. 6 Figg.).

Bugge, G., Das Tyndallmeter (Chem. Apparatur Bd. 2, 1915, p. 19—21).

Hine, T. G. M., The sterilisation of albuminous culture media by ether (Lancet vol. 2, 1915, no. 5, p. 253—254).

Kühn, C., Über den Wert der Zählung feinkörniger Substanzen (Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. 28, 1915, p. 126—128).

Lenk, E., Die Herstellung der Silberspiegel nach Liebig (Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. 28 [1], 1915, p. 2—5).

Mecklenburg, W., Über die Beziehungen zwischen Tyndalleffekt und Teilchengröße kolloidaler Lösungen (Kolloid-Zeitschr. Bd. 16, 1915, p. 97—103).

Neuberg, C., Ein einfacher Polarisationsapparat für Mikro- und Makrobestimmungen bei weißem Licht (Zeitschr. d. Ver. d. Zucker-Ind. 1916, p. 8—9).

Odén, S., Eine neue Methode zur Bestimmung der Körnerverteilung in Suspensionen (Kolloid-Zeitschr. Bd. 18, 1916, p. 33—48 m. 16 Figg.).

Ostwald, W., Zur Begründung einer Lehre von den Pigmenten. I. Die fundamentalen Eigenschaften der Pigmente und ihre Korngröße (Kolloid-Zeitschr. Bd. 16, 1915, p. 1—4).

Posejpal, V., Über die Verwendung eines Spektrophotometers in Verbindung mit dem JAMINschen Refraktometer (Ann. d. Phys. [4] Bd. 49, 1916, p. 419—432).

Riesenfeld, E. H., u. **Möller, H. F.**, Eine neue Mikrowage (Zeitschr. f. Instrumentenkde. Jahrg. 36, 1916, H. 2, p. 47—48; vgl. Zeitschr. f. Elektrochemie Bd. 21, 1915, p. 131).

Schaerer, C. A., Die Herstellung physiologischer Kochsalzlösung nach neuem Verfahren (Zentralbl. f. inn. Med. Jahrg. 36, 1915, No. 51, p. 829—831 m. 3 Figg.).

Wilke, E., Untersuchungen am Tyndallphänomen (Zeitschr. f. Elektr. Bd. 21, 1915, p. 117—118).

---

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Bělař, R., Protozoënstudien. II. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 36, 1916, p. 241—302 m. 5 Figg. u. 9 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 403).

Pringsheim, E. G., Die Kultur von Paramaecium bursaria (Biol. Zentralbl. Bd. 35, 1915, No. 8, 9, p. 375—379).

Schmidt, G., Blutgefäßsystem und Mantelhöhle der Weinbergschnecke [Helix pomatia] (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 115, 1916, p. 201—261 m. 36 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 404).

Weisensee, H., Die Geschlechtsverhältnisse und der Geschlechtsapparat bei Anodonta (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 115, 1916, p. 226—235 m. 27 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 405).

---

b. Wirbeltiere.

Barrington, F. J. F., The variations in the mucin content of the bulbo-urethral glands (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. 30, 1914, p. 1—20 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 416).

Fiorio, L., Ricerche sulle relazioni morfologiche fra leucociti, globuli rossi e cellule del connettivo (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. 29, 1913, p. 321—370 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 407).

Fischel, A., Über rückläufige Entwicklung. 1. Die Rückbildung der transplantierten Augenlinse. 2. Über Umbildung des Hautepithels bei Urodelenlarven (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. **42**, 1916, p. 1—71 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 412).

Griesmann, B., Über die fibrilläre Struktur des Sarkolemms (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **29**, 1913, p. 268—272 m. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 407).

Guieysse-Pellissier, A., Caryoanabiose et greffe nucléaire (Arch. d'Anat. Micr. t. **13**, 1911—1912, p. 1—54 av. 1 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 410).

Guieysse-Pellissier, A., Étude de l'épithélium intestinal de la roussette (Scyllium catulus Cuv.). Noyaux, diplosomes, cadres cellulaires et cils, cellules caliciformes (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 469—514 av. 1 pl. et 9 figg. dans le texte; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 420).

Hausmann, W., u. **Mayerhofer, E.**, Über den hemmenden Einfluß des Quarzlampenlichtes auf die Blutgerinnung (Biochem. Zeitschr. Bd. 72, 1916, p. 379—382).

Lawrentjew, B., Zur Frage der Morphologie und Verteilung der Nervenendigungen in der weiblichen Urethra (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. **30**, 1914, p. 337—362 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 413).

Mawas, J., Sur un nouveau procédé de coloration de la graisse dans les tissus et particulièrement dans le système nerveux (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes, 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 206—207; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 415).

Mawas, J., Granulations lipoides des cellules fixes de la cornée et de certaines cellules conjonctives des vertébrés (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 136—141 av. 3 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 423).

Mawas, J., et **Magitot, A.**, Étude sur le développement du corps vitré et de la zonule chez l'homme (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 41—144 av. 7 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 424).

Moraux, R., Recherches sur la morphologie et la fonction glandulaire de l'épithélium de la trompe utérine chez les mammifères (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 515—576 av. 2 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 419).

Nicolas, J., **Regaud, C.**, et **Favre, M.**, Sur la fine structure des glandes sudoripares de l'homme particulièrement en ce qui concerne les mitochondries et les phénomènes de secrétion (C. R. Assoc. Anat. 14. Réun. Rennes, 1912, Bibliogr. Anat. suppl. 1912, p. 191—200 av. 3 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 417).

Policard, M. A., La cytogenèse du tube urinaire chez l'homme (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 429—468 av. 23 figg. dans le texte; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 422).

Renaut, J., et **Dubreuil, G.**, Origine conjonctive des cellules musculaires lisses des artères, leur filiation directe avec les cellules connectives mobiles, stades cytologiques de leur développement (Arch. d'Anat. Micr. t. **14**, 1912—1913, p. 577—607 av. 11 figg. dans le texte; vgl. diese Zeitschr. Bd. **32**, 1915, p. 408).

Rosenbaum, O., Über die Struktur der Grundsubstanz des Netzknorpels (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. 29, 1913, p. 264—267 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 408).

Salkind, J., Sur quelques structures fines et formes d'activité du thymus des mammifères (Arch. d'Anat. Micr. t. 15, 1913, p. 315—348 av. 1 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 416).

Schwarz, E., Untersuchungen über die elastischen Fasern des Uterus (Virchows Arch. Bd. 220, 1915, H. 3, p. 323—327 m. 3 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 422).

Vitali, G., Di un nuovo organo nervoso di senso nell'orecchio medio degli uccelli. Ulteriore destino dell'organo della prima fessura branchiale (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. 30, 1914, p. 363—428 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 422).

Werneke, F., Die Pigmentierung der Farbenrassen von Mus musculus und ihre Beziehung zur Vererbung (Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 42, 1916, p. 72—106 m. 2 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 411).

---

c. Mikroorganismen.

Acél, D., Über Kongorot-Nährböden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 2, p. 204—207).

Bozzelli, R., Bacilli tubercolari (tipo Koch) e bacilli paratubercolari — metodo di colorazione per differenziarli (Ann. staz. per le mal. inf. del bestiame Anno 2, 1914, no. 1, p. 77—103).

Bujwid, O., Differenzierung von Bakterienkulturen mit H_2O_2 (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 5, 6, p. 441—442).

Doerr, H., Untersuchungen über das Vorkommen säurefester Bakterien in der Umgebung der Menschen und der Tiere. Vet.-med. Diss. Gießen. 37 pp. Gießen (Christ & Herr) 1914.

Engleson, H., Ein Beitrag zur Frage vom Vorkommen der Tuberkelbazillen in den Fäces. Eine neue Methode zum Nachweis derselben (Beitr. z. Klinik d. Tuberk. Bd. 35, 1915, H. 1, p. 38—62).

França, C., Le Trypanosoma inopinatum (Arch. f. Protistenkde. Bd. 36, 1915, H. 1, p. 1—12 m. 1 Tfl.).

Geilinger, H., Notiz zur Frage der Verwendbarkeit des Pferdefleischagars für die Bakteriendiagnostik (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 5, 6, p. 446—448).

Kindborg, E., Verbesserte Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1916, H. 5, 6, p. 442—446).

Kuhn, Ph., Die Verwendung von Tierkohle zum Nachweis von Typhusbazillen (Med. Klinik Jahrg. 11, 1915, No. 48, p. 1323—1324).

Martin, C., Eine einfache ziffernmäßige Bestimmung des Bazillengehalts des Sputums (Med. Klinik Jahrg. 11, 1915, No. 52, p. 1424).

Minder, L., Über morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkelbazillen vom Typus gallinaceus unter spezieller Berücksichtigung der Granula (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 77, 1915, H. 2, p. 113—130; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 425).

Schürmann, W., Die Brauchbarkeit des Kongorotserum- und DRIGALSKI-Serumagars zur bakteriologischen Typhusdiagnose (Med. Klinik Jahrg. 11, 1915, No. 49, p. 1352—1353).

Sobel, L. L., Praktische Nährböden zur Diagnose von Cholera, Typhus und Dysenterie (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 41, 1915, No. 53, p. 1573).

Weltmann, O., Die Vitalfärbung zum raschen Nachweis der Spirochaete Obermeieri (Wien. klinische Wochenschr. Jahrg. 28, 1915, No. 46, p. 1257).

d. Botanisches.

Fornet, A., Dauerpräparate von Brot und Mehl D. R. P. a. nach Dr. FORNET (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen Bd. 7, 1915, p. 261—263 m. 2 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 430).

Fünfstück, M., u. **Braun, R.**, Zur Mikrochemie der Droseraceen (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 34, 1916, H. 3, p. 160—168; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 429).

Kaufmann-Wolf, M., Über die Bestimmung pathogener Hyphomyzeten [unter besonderer Berücksichtigung der Berliner Pilzflora] (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. 121, 1915, Orig. H. 1, p. 684—696).

Meyer, A., Die Allinante. Zugleich eine Antwort auf die Darstellung von GUILLIERMOND im 32. Bande dieser Berichte p. 282 (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 34, 1916, H. 3, p. 168—173; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 430).

Molisch, H., Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze. No. 4: Über organische Kalkkugeln und über Kieselkörper bei Capparis (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 34, 1916, H. 3, p. 154—160; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 428).

Tunmann, O., Zur Mikrochemie des Aesculins und zum Nachweis dieses Körpers in Aesculus hippocastanum L. (Schweiz. Apotheker-Zeitg. Bd. 54, 1916).

West, C., a. **Lechmere, A. E.**, On chromatin extrusion in pollen mother-cells of Lilium candidum LINN. (Ann. of bot. vol. 29, 1915, no. 114, p. 285—291 w. 1 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 428).

Woolery, R., Meiotic divisions in the microspore mother-cells of Smilacina racemosa [L.] DESF. (Ann. of bot. vol. 29, 1915, no. 116, p. 471—482 w. 1 pl. a. 1 fig. in the text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 428).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Baucke, H., Über einige neue mikrographische Beobachtungen beim Kupfer (Intern. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. 4, 1913, p. 155—166 m. 10 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 436).

Beutell, A., Mikroskopische Untersuchung des Speiskobalts und Chloanthits (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Pal. 1916, p. 180—185 u. 206—221 m. 20 Figg.).

Czochralski, J., Metallographische Untersuchungen am Zinn und ihre fundamentale Bedeutung für die Theorie der Formänderung bildsamer Metalle (Intern. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. 8, 1916, p. 1—43 m. 29 Figg.).

Czochralski, J., Hauptarten der Ätzerscheinungen und die metallographischen Ätzverfahren (Stahl u. Eisen Bd. 35, 1915, p. 1073—1078 u. 1129—1135).

Deutsch, W., Die Mechanik des „Fließens“ und die Metallographie (Internat. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. 8, 1916, p. 44—55 m. 5 Figg.).

Endell, K., u. Hanemann, H., Über die optische Orientierung einiger Metallschmelzen (Zeitschr. f. anorgan. Chem. Bd. 83, 1913, p. 267—274; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 432).

Ewald, P. P., Zur Begründung der Kristalloptik (Ann. d. Phys. [4] Bd. 49, 1916, p. 1—38 u. 117—143 m. 11 Figg.).

Glocker, R., Interferenz der Röntgenstrahlen und Kristallstruktur (Ann. d. Phys. [4] Bd. 47, 1915, p. 377—428; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 434).

Hanemann, H., Metallographische Untersuchung einiger altkeltischer und antiker Eisenfunde (Intern. Zeitschr. f. Metallogr. Bd. 4, 1913, p. 248—256 m. 10 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 348).

Hanemann, H., Metallmikroskopie mit Anwendung polarisierten Lichtes (Zeitschr. f. anorgan. Chemie Bd. 88, 1915, p. 265—268).

Herrera, A. L., Recherche microchimique de la silice dans la fumée ou dans les vapeurs des substances organiques (Bol. direcc. est. biol. Mexico vol. 1, p. 105—111).

Laue, M. v., u. Lingen, J. St. van der, Experimentelle Untersuchungen über den Debye-Effekt (Physikal. Zeitschr. Bd. 15, 1914, p. 75—77; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 434).

Mügge, O., Zur Kenntnis der Einlagerungen von Eisenerzen in Glimmer und einiger Eigenschaften des Goethit (Neues Jahrb. f. Min., Geol. u. Pal. Bd. 1, 1916, p. 55—70 m. 2 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 430).

Oberhoffer, P., Einige Beobachtungen über die sogenannte Zeilenstruktur (Stahl u. Eisen 1913, No. 38 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 435).

Quincke, G., Struktur und Eigenschaften des Glases (Ann. d. Phys. [4] Bd. 46, 1915, p. 1025—1053).

Rinne, F., Beitrag zur optischen Kenntnis der kolloidalen Kieselsäure (Neues Jahrb. f. Min., Geol. u. Pal. Beil.-Bd. 39, 1914, p. 388—414; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 433).

Rinne, F., Die Kristallwinkelveränderung verwandter Stoffe beim Wechsel der Temperatur. I. (Zentralbl. f. Min., Geol. u. Pal. 1914, p. 706—718 m. 9 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 434).

Stutzer, O., Über neuere Resultate der mikroskopischen Untersuchung undurchsichtiger Erzgemenge (Metall u. Erz Bd. 11, 1914, p. 450—461).

Wagner, E., Über vergleichende Raumgittermessungen an Steinsalz und Sylvin mittels homogener Röntgenstrahlen und über deren exakte Wellenlängenbestimmung (Ann. d. Phys. [4] Bd. 49, 1916, p. 625—647 m. 2 Tfln.).

Winter, H., Die mikroskopische Untersuchung der Kohle in auffallendem Licht (Glückauf 1913, No. 35, 36 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 32, 1915, p. 437).

Autoren-Register.

Sach-Register.

Berichtigung.

S. 261 Zeile 17 von oben statt p. 258 lies p. 255.
S. 416 „ 6 „ „ „ Barrinton lies Barrington.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker und **Dr. V. Dürrfeld**
in Bonn in Brake i. O.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Bonn

Band 32, Heft 1

Heft 125

Ausgegeben am 19. August 1915

Mit 27 Textabbildungen und 3 Tafeln (Tab. I—III)

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1915

Die Zeitschrift für Mikroskopie erscheint vierteljährlich. 4 Hefte bilden einen Jahresband zum Preise von 20 Mark. Abonnementspreis bei direkter Zusendung im Inland Mk. 20.80, im Ausland Mk. 21.60.

Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, ***Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Bonn*** *(Endenicherallee 44); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung von S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (32, 1) enthält 36 Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker und **Dr. V. Dürrfeld**
in Bonn in Brake i. O.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Bonn

Band 32, Heft 2

Heft 126

Ausgegeben am 5. Januar 1916

Mit 6 Textabbildungen

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1915

Die Zeitschrift für Mikroskopie erscheint vierteljährlich. 4 Hefte bilden einen Jahresband zum Preise von 20 Mark. Abonnementspreis bei direkter Zusendung im Inland Mk. 20.80, im Ausland Mk. 21.60.

*Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, **Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Bonn** (Endenicherallee 44); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung von S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

Autorenregister.

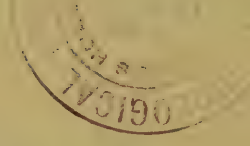
Das vorliegende Heft (32, 2) enthält 62 Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE



MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker und **Dr. V. Dürrfeld**
in Bonn in Brake i. O.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Bonn

Band 32, Heft 3

Heft 127

Ausgegeben am 31. März 1916

LEIPZIG
Königstrasse 2
VERLAG VON S. HIRZEL
1915

Die Zeitschrift für Mikroskopie erscheint vierteljährlich. 4 Hefte bilden einen Jahresband zum Preise von 20 Mark. Abonnementspreis bei direkter Zusendung im Inland Mk. 20.80, im Ausland Mk. 21.60.

Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, ***Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Bonn*** *(Endenicherallee 44); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung von S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

Autorenregister.

Das vorliegende Heft (32, 3) enthält 52 Referate über die Arbeiten folgender Autoren:



Lehrbuch
der
Haut- und Geschlechtskrankheiten
für Studierende und Ärzte

von

Prof. Dr. W. Scholtz
Direktor der Univ.-Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten in Königsberg

I. Band
Geschlechtskrankheiten

Mit 84 meist farbigen Abbildungen und Tafeln

Preis geheftet Mark 12.—, gebunden M. 14.—

Hervorgegangen aus der führenden Schule Albert Neissers enthält dieses Werk die erste erschöpfende Darstellung unserer heutigen Kenntnisse in der Pathologie und Therapie der Hautkrankheiten, wie sie auf den außerordentlichen Fortschritten innerhalb der letzten fünf Jahre begründet sind. — Klare und deutliche Hervorhebung des für die Praxis Wichtigen machen das Buch zu einem genügend eingehenden und doch nicht zu umfangreichen Lehrbuch für den Studierenden, gleichzeitig aber zu einem übersichtlichen Nachschlagebuch für den Dermatologen und den praktischen Arzt.

Die zumeist zum ersten Male reproduzierten Moulagen der Breslauer Klinik für Syphilis und Hautkrankheiten liegen den fast durchgehend farbigen Abbildungen, die technisch hervorragend sind, zugrunde.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn und **R. E. Liesegang** in Frankfurt a. M.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER

in Bonn

Band 32, Heft 4

Heft 128

Ausgegeben am 29. Juni 1916

Mit 2 Textabbildungen und 1 Tafel (Tab. IV)

LEIPZIG

Königstrasse 2

VERLAG VON S. HIRZEL

1915

Die Zeitschrift für Mikroskopie erscheint vierteljährlich. 4 Hefte bilden einen Jahresband zum Preise von 20 Mark. Abonnementspreis bei direkter Zusendung im Inland Mk. 20.80, im Ausland Mk. 21.60.

Alle Sendungen von Beiträgen für die Zeitschrift erbittet man an den Herausgeber, ***Herrn Prof. Dr. Ernst Küster in Bonn*** *(Endenicherallee 44); die Sendungen von Drucksachen durch die Post an denselben oder auf Buchhändlerwege durch die Verlagsbuchhandlung von S. Hirzel in Leipzig.*

Inhalt.

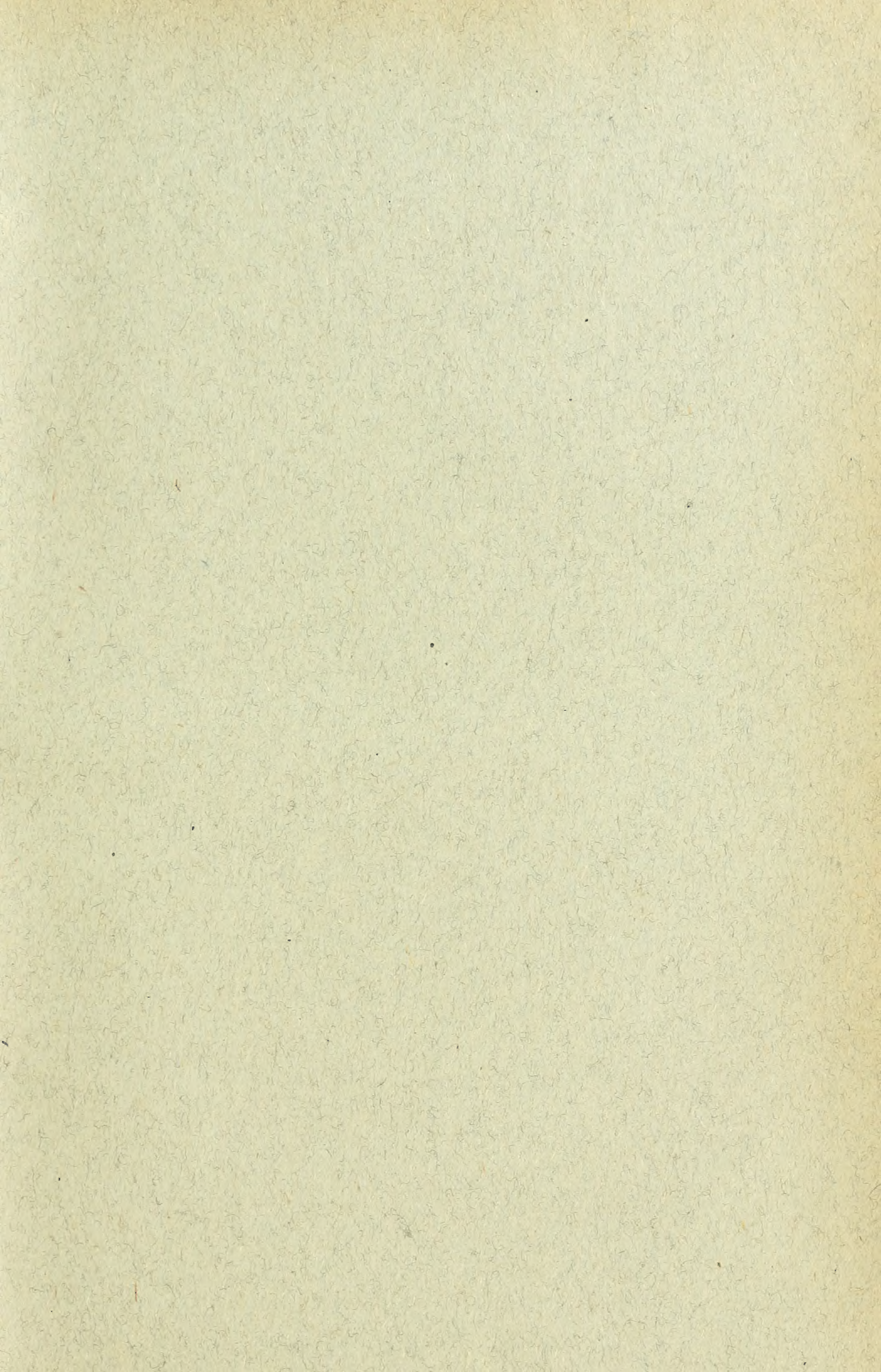
Autorenregister.

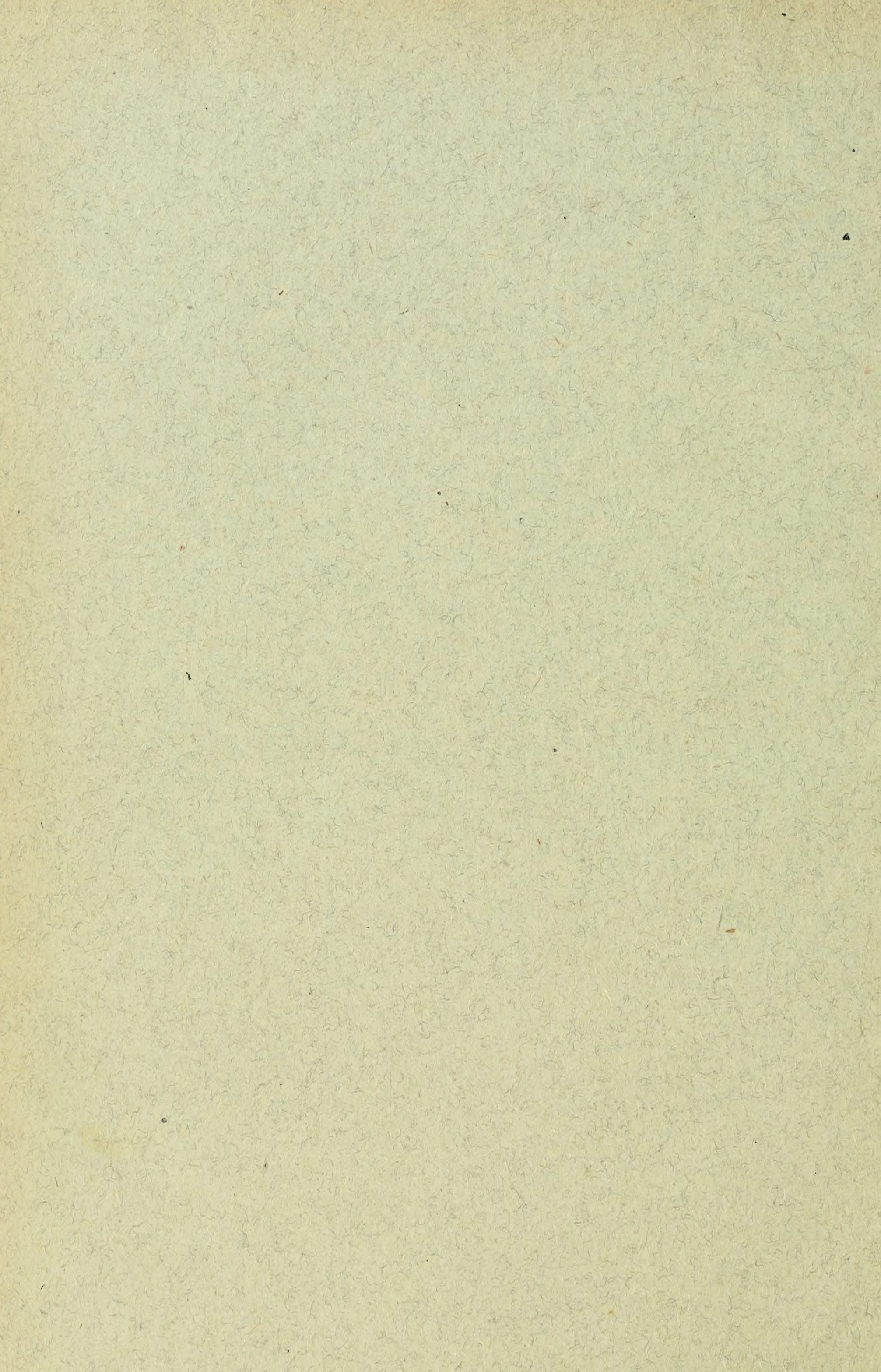
Das vorliegende Heft (32, 4) enthält 39 Referate über die Arbeiten folgender Autoren:

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.










MBL/WHOI LIBRARY
WH 19M7 2

